

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieure et de la Recherche Scientifique
Université Saâd Dahlab de Blida
Faculté des Sciences Agro-Vétérinaires et Biologiques
Département de Biologie

Mémoire de fin d'études

En vue de l'obtention du Diplôme de Master en Biologie

Option : *Microbiologie / Bactériologie*

Thème

Examen cyto bactériologique des suppurations cutanées et des foyers d'infections fermées

Présenté par: BENAOUA-ZOUAOUI Sarah

Devant le jury :

M ^{me} TAIL G.	MAITRE DE CONFERENCES (A)	USDB	PRÉSIDENTE.
M ^{me} MEKLATE A.	MAITRE DE CONFERENCES (B)	USDB	EXAMINATRICE.
M ^{me} KESKAS S.	MAITRE ASSISTANTE (B)	USDB	EXAMINATRICE.
M ^f HAMAIDI M.S.	MAITRE DE CONFERENCES (A)	USDB	PROMOTEUR.
M ^{me} LALLAOUI F.N.	ASSISTANTE EN MICROBIOLOGIE		CO-PROMOTRICE.

Promotion 2012-2013

*À la mémoire de ma sœur,
À mes parents et
à mon frère.*

REMERCIEMENTS

Dans le cadre de la réalisation de ce mémoire de fin d'étude je remercie :

Tout d'abord Dieu, Le tout puissant de m'avoir donné la force, le courage et surtout la patience pour accomplir ce travail.

Mr Dr HAMAIDI.MS maitre de conférences A à l'université de blida, d'avoir accepté de me prendre en charge et pour l'intérêt démontré tout au long de mon étude malgré ses charges académiques et professionnelles.

Mes remerciements s'adressent également à Mme Dr TAIL G. maitre de conférence A à l'université de Blida, qui a honoré ce travail en acceptant de présider le jury. Ainsi que Mme Dr MEKLAT A. maitre de conférences B à Blida, et Mme KESKAS S. maitre assistante B à Blida, qui m'ont fait l'honneur de participer à ce jury et d'examiner ce travail, j'espère qu'il sera à la hauteur des attentes.

Mlle Dr LALAOUI assistantes en microbiologie pour l'aide et le temps qu'elle a bien voulu me consacrer pendant mon stage à l'EPH de Koléa.

Mes sincères reconnaissances à tous mes enseignants pour leurs efforts fournis durant mon cursus universitaire ainsi qu'à tous ceux qui ont collaboré d'une façon ou d'une autre à ma formation.

Un grand merci à toute l'équipe du laboratoire central de l'EPH de Koléa et en particulier Mr AOUNI, Mr ZAIBEK, Mlle KHIREDINE.

Mes remerciements s'adressent également à tout le personnel médical de l'EPH de Koléa.

Je remercie aussi mes parents, ma famille et mes amis qui m'ont été d'un soutien moral tout au long de ma formation.

RESUME

Les prélèvements des pus constituent une grosse part de l'activité d'un laboratoire de bactériologie.

Ces infections posent un problème économique majeur, car ils impliquent un traitement et une hospitalisation prolongée particulièrement si elles surviennent sur un terrain fragilisé par une maladie sous jacente.

Sur 102 cultures réalisées, 85 cultures sont positives (83%) et 17 cultures négatives (17%); 72% des cultures sont des cultures monomicrobiennes tandis que 28% des cultures sont polymicrobiennes. Nous avons identifié 113 germes et les Entérobactéries occupent la première position (41.54%), suivi par les Staphylocoques (20.35%), *Pseudomonas aeruginosa* arrive en troisième position avec (14,15%), viennent par la suite les Streptocoques (11.05%), et les Candida qui ont présenté le taux le plus faible (4.43%).

L'antibiogramme effectué a montré que 33.76% des souches de *S.aureus* sont résistantes à la méticilline (MRSA). Les Entérobactéries ont présenté une résistance élevée vis-à-vis des β -lactamines testés, 34% des souches isolées étaient productrices des β -lactamase à spectre élargie (BLSE).

Mots clés : Infection, suppurations, antibiotique, résistance, Isolats.

ABSTRACT

Samples of pus are a big part of the activity of a bacteriology laboratory.

They include all types of abscesses (primitive, secondary, chronic and accidental). These infections are a major economic problem because it involves treatment and prolonged hospitalization especially if it occurs on a field weakened by a disease in adjacent (diabetes, super infection of a surgical wound ... etc...).

Of 102 cultures performed, 85 positive cultures (83%) and 17 negative cultures (17%), 72% of the crops are monomicrobial cultures while 28% of crops are polymicrobial. We identified 113 bacteria and Enterobacteriaceae occupy the first position (41.54%), followed by Staphylococcus (20.35%), *Pseudomonas aeruginosa* came third with (14.15%), have subsequently streptococci (11.05%) and Candida which showed the lowest rate (4.43%).

The susceptibility performed showed that 33.76% of *S. aureus* strains are resistant to methicillin (MRSA). Enterobacteriaceae showed high resistance to the β -lactams tested, 34% of the isolates were β -lactamase producing of extended spectrum (ESBL).

Keywords: Infection, abscesses, antibiotic resistance.

Liste des tableaux

Tableau	Titre	Page
I	Microbiologie des suppurations superficielles de la peau	05
II	Etiologie des abcès	06
III	Microbiologie des suppurations post-traumatique	06
IV	Caractères différentiels des principales espèces de Staphylocoques ayant un rôle potentiellement pathogène	09
V	Principaux caractères biochimiques des entérobactéries isolées	12
VI	Profil biochimique de <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	13
VII	Fréquences des microorganismes isolés et identifiés à partir des prélèvements de suppuration	44
VIII	Classification des antibiotiques	Annexe 01
IX	Matériel non biologique	Annexe 02
X	Liste des antibiotiques testés durant le stage selon le germe identifié	Annexe 02
XI	Résistance naturelles chez les entérobactéries	Annexe 02
XII	Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition pour les Entérobactéries	Annexe 02
XIII	Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition pour <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Annexe 02
XIV	Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition pour <i>Staphylococcus spp.</i>	Annexe 02
XV	Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibitions pour les Streptocoques	Annexe 02

Liste des figures

Figure	Titre	Page
01	Schématisation des prélèvements à pratiquer en fonction du type des suppurations.	19
02	Identification des bacilles à Gram négatif	22
03	Identification des cocci à Gram positif	23
04	Identification des staphylocoques	23
05	Identification des Streptocoques / Entérocoques	24
06	Répartition des prélèvements selon le sexe	38
07	Répartition des prélèvements selon les tranches d'âge	38
08	Répartition des prélèvements de suppurations selon les patients hospitalisés ou non hospitalisés	39
09	Répartition des prélèvements selon les services d'origine	39
10	Répartition des prélèvements selon les services principaux	40
11	Répartition des résultats selon les types de suppurations	40
12	Répartition des résultats selon la positivité des examens microbiologiques	41
13	Répartition des résultats des examens selon le type d'infection	41
14	Répartition des résultats selon la culture monomicrobienne et polymicrobienne	42
15	Répartition des germes identifiés selon les groupes	43
16	Répartition des germes identifiés selon les genres	43
17	Répartition des groupes de germes trouvés selon le type de suppuration	45
18	Répartition de l'antibiorésistance des Entérobactéries isolées	46
19	Répartition des souches des Entérobactéries BLSE+	46
20	répartition de l'antibiorésistance des souches de <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	47
21	Répartition de l'antibiorésistance des souches de <i>Staphylococcus aureus</i>	48
22	Répartition des souches de <i>Staphylococcus aureus</i> selon la résistance à la méticilline	48
22	Répartition de l'antibiorésistance des souches de <i>Streptococcus sp</i>	49
23	Comparaison entre deux profils microbiologiques pour les mêmes malades	50

Table des matières

INTRODUCTION	1
Chapitre I : ETAT DES CONNAISSANCES	
I.1 PEAU	
I.1.1 Rôle de la peau contre la pénétration microbienne.	2
I.1.2 La flore cutanée.	2
I.2. SUPPURATIONS	
I.2.1 Définition	3
I.2.2 Mécanismes de formation	3
I.2.3 Pathogénèse	3
I.2.4 Types de suppurations	4
I.3- PRINCIPAUX MICROORGANISMES ISOLES A PARTIR DES PRELEVEMENTS DE SUPPURATIONS :	
I.3.1 Les bactéries	8
I.3.2 Les levures	14
I.4. ANTIBIOTHERAPIE ET ANTIBIORESISTANCES	
I.4.1 Antibiotiques	14
I.4.2 Spectre d'action des antibiotiques	18
I.4.3 Mécanismes de résistances	19
I.4.4 Classification des antibiotiques	19
I.4.5 Résistances aux antibiotiques	20
I.4.6-Types de résistances	20
Chapitre II : MATERIELS ET METHODES	
II.1- MATERIEL	
.....	17
II.1.1 Matériels biologique	17
.....	17
II.1.2 Matériels non biologique	17
II.2METHODES.....	
	17

II.2.1 Prélèvement	18
II.2.2 Examen microbiologique d'une du pus	20

Chapitre II : RESULTATS ET DISCUSSION

III. 1 RESULTATS	38
III. 2 DISCUSSION	52

CONCLUSION

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

ANNEXES

Introduction

Les suppurations infectieuses constituent des causes fréquentes de consultation chez un praticien généraliste. Les pathologies les plus rencontrées sont l'impétigo, la folliculite, le furoncle, l'abcès et enfin l'érysipèle.

Ces affections variées se rencontrent sur différents terrains : sur peau saine, mais plus souvent en cas de dermatose préexistante (brûlure, lésion traumatique ou suintante, psoriasis etc..).

Staphylococcus aureus est le pathogène prédominant dans l'impétigo et la furonculose (**Jarlier et al., 2007**).

Ces infections sont potentiellement récidivantes et responsables de complications sévères par extension locorégionale (abcès) ou diffusion hématogène.

Dans le but d'apporter certaines informations relative à cette pathologie et de prendre conscience de sa gravité par les complications qu'elle engendre, nous avons effectué une étude à l'EPH de Koléa qui porte sur l'analyse microbiologique d'une centaine de prélèvements de suppurations. Les objectifs visés par cette étude sont :

- Déterminer la fréquence des suppurations dans la région.
- Déterminer les caractéristiques épidémiologiques des personnes concernées.
- Isoler et identifier les microorganismes responsables de l'infection.
- Evaluer l'activité des principaux antibiotiques sur les germes en causes.

Chapitre I : Etat des connaissances

Une bonne compréhension de la pathogénie des infections de la peau et des tissus mous, nécessite une connaissance de cette partie du corps.

1- PEAU:

La peau est le tissu qui enveloppe notre corps. Sa superficie varie de 1,5 à 2m² chez l'adulte. Son épaisseur varie de 1,5 à 4mm selon les régions. Elle est composée de trois couche ; épiderme, derme et l'hypoderme (**Sablonniere, 2002**). Chacune de ces couches peut être le siège d'un processus infectieux (**Schaether et al., 1999**).

1.1- Rôle de la peau contre la pénétration microbienne :

L'une des fonctions importantes de la peau est la protection du milieu interne contre les agressions externes. C'est la première ligne de défense contre les microbes (**Peyrefitte, 1995**). Grace à la sécrétion de sébum, la surface de la peau est recouverte d'un film lipidique protecteur. Mélangé à la sueur, son taux d'acidité limite le développement des microorganismes à sa surface (**Vautrin, 2005**).

A l'état normal, et au niveau de l'épiderme, existent des mécanismes de défense anti-infectieux représentés par les lysozymes (protéine antimicrobienne exprimée par les kératinocytes) et de défensines (peptides antimicrobiens possèdent un large spectre d'activité antimicrobienne) (**Wallach, 2003**).

Si la barrière cornée est franchie, un deuxième moyen de défense est mis en jeu et constitué par la réponse inflammatoire du derme. Les cellules de Langerhans qui occupent une position stratégique au contact de l'environnement, sont les acteurs principaux des défenses immunologiques de la peau, elles présentent l'antigène aux lymphocytes T et déclenchent ainsi une réponse immunitaire de type cellulaire (**Peyrefitte, 1995**).

1.2- La flore cutanée :

La connaissance des différents microorganismes de la flore naturelle fournit un large aperçu des infections possibles, résultant de blessures dans ces sites particuliers et donne au clinicien une perspective sur la source et l'importance possibles de microorganismes isolés du site d'infection (**Prescott et al., 2003**).

La flore cutanée est importante en quantité 10³ à 10⁷ bactéries/cm² de peau selon les zones sèches ou humides) (**Grosjean et al., 2009**), elle est constituée par :

- Une flore résidente, qui existe naturellement à la surface de la peau (**Peyrefitte, 1995**). Celle-ci est Constituée de microorganismes saprophytes ; Staphylococcus à coagulase négative, Corynebacterium, Propionibacterium (**Pechere et al., 1991**).
- Une flore transitoire composée de microorganismes accidentels de la peau, dont la survie sur le territoire cutanée est faible et temporaire (**Peyrefitte, 1995**). On y retrouve notamment : *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes* et autres Streptocoques, entérocoques, entérobactéries, *pseudomonas* et *candida albicans*, se sont surtout des bactéries aérobies (**Figarella et al., 2004**).

2.- SUPPURATIONS

Le processus infectieux commun le plus observé est la production d'un exsudat purulent (parfois séro-purulent), résultant d'une invasion bactérienne d'une cavité d'un tissu ou d'un organe du corps. Ces infections peuvent être relativement simples tel un bouton inoffensif ou une série de multiples poches de pus dans les abcès dans un ou plusieurs sites anatomiques.

En fonction de la variabilité du site anatomique, il y a également une variabilité des microorganismes impliqués (**Vandepitte et al., 2003**).

2.1- Définition :

Le pus est un liquide pathologique plus au moins épais, opaque, souvent jaunâtre, qui se forme sur le site de l'infection en particulier à la suite de blessures. Il est formé des bactéries mortes ou vivantes, des globules blancs morts ou affaiblis et de fibrine (**Bosgiraud, 2003**).

Si l'infection est superficielle, le pus formé s'écoule spontanément à l'extérieur et si elle a lieu dans les tissus profonds, le pus reste emprisonné et forme un abcès (**Regnaul, 2002**).

2.2- Mécanismes de formation

La manifestation la plus générale d'une infection locale ou régionale est la réaction inflammatoire (**Regnaul, 2002**). Elle a pour but de diriger les molécules sériques et les cellules du système immunitaire vers le site de la lésion tissulaire (**Male, 2005**).

En règle générale, les neutrophiles sont les premiers sur le site de l'inflammation, ils sont suivies par les macrophages et les lymphocytes en cas de stimulation immunologique (**Male, 2005**).

La réaction inflammatoire joue à la fois un rôle bénéfique et un rôle néfaste :

- Son rôle bénéfique est dû au fait que la réaction d'inflammation agit comme un signal d'alerte permettant à l'organisme de mobiliser très rapidement les cellules phagocytaires.
- L'aspect néfaste se traduit par une destruction tissulaire locale. L'expulsion dans le milieu extracellulaire du contenu très acide et riche en enzymes des vacuoles de digestion entraîne la destruction des phagocytes eux-mêmes, et des cellules environnantes, avec formation de pus et d'une lésion tissulaire plus au moins importante, pouvant aller jusqu'à la nécrose (**Canu et François, 2001**).

2.3- Pathogénèse :

Les localisations purulentes sont variées et la nature des agents infectieux impliqués sera aussi très diverse.

On distingue trois classes en fonction de la profondeur ;

- Classe I: les prélèvements proviennent de localisation normalement stériles (cerveau, adéno-pathie, bile, os, etc.) dans ce cas, si les prélèvements ont été

effectués dans de bonnes conditions d'asepsie, les bactéries isolées sont directement impliquées dans le processus infectieux

- Classe II : les prélèvements sont effectués au niveau des zones profondes communiquant avec des flores commensales qui peuvent contaminer le prélèvement, ce sont les prélèvements de classe II (**Denis et al., 2007**).
- Classe III : les prélèvements sont effectués au niveau des zones superficielles et seront donc contaminés directement par la flore commensale, surtout s'ils sont effectués par écouvillonnage (c'est le cas des prélèvements cutanés à type escarre, de brûlures, de morsures, de plaies, etc.)

Les bactéries recherchées seront différentes selon la localisation de la suppuration, du mode de prélèvements (seringue, biopsie, écouvillon) et du mode de transport (surtout pour la recherche d'anaérobies) (**Denis et al., 2007**).

2.4- Types de suppurations :

2.4.1- Suppurations primitives :

Suppurations superficielles : elles concernent le tissu cutané et se manifestent sous différents aspects :

- Impétigo : C'est une infection cutanée contagieuse, superficielle (intra-épidermique, sous-cornéenne), survenant principalement au cours de l'enfance.

L'impétigo débute, par de petites vésicules et pustules sur un érythème cutané. Les pustules donnent lieu après leur éclosion à des croûtes couleur de miel caractéristiques (**Davido, 2010**).

- Érysipèle ou éréripèle du grec (peau rouge) : c'est une dermo-hypodermite aiguë non nécrosante (infection du derme et de l'hypoderme) survenant autour d'une affection cutanée mal ou non soignée (plaie, impétigo, lésion mycosique des plis (intertrigo) ou d'un orifice naturel (œil, nez, etc.).

Il atteint surtout les adultes après 60 ans. Plus de 85 % des érysipèles surviennent aux membres inférieurs (**Prescrire, 2007**).

- Folliculite superficielle (ostio-folliculite) et furoncles : Une folliculite est une infection aiguë superficielle du follicule pilo-sébacé (ostio-folliculite), alors que le furoncle est une infection profonde et nécrosante du follicule pilo-sébacé

Des facteurs favorisants peuvent être mis en cause:

- ✓ Facteurs locaux tels que : macération, traumatisme, hygiène déficiente, corticothérapie locale.
- ✓ Facteurs généraux tels que : diabète, obésité, déficit immunitaire.

Il convient de séparer deux entités cliniques, appartenant au même cadre nosologique :

- ✓ La folliculite : pustule centrée par un poil, reposant sur une base inflammatoire
- ✓ Le furoncle : nodule inflammatoire centré par un poil surmonté par une pustule (**Davido, 2010**).

- Cellulite : La cellulite n'est pas une infection de la peau en tant que tel, mais elle se développe à la suite d'une infection de la peau ou de plaies, elle se présente habituellement comme une inflammation aigüe du tissu conjonctif sous cutané (**Kenneth et George Ray, 2004**)

L'érysipèle coexiste souvent avec la cellulite et il est souvent difficile de distinguer l'un de l'autre (**David et al., 2011**).

Le tableau ci-dessous résume la microbiologie des suppurations superficielles (Tableau I)

Tableau I Microbiologie des suppurations superficielles de la peau

Nature de l'infection	Germe	
	Les plus fréquents	Moins fréquents
Impétigo	<i>Streptococcus pyogenes</i> <i>Staphylococcus aureus</i>	
Erysipèle	<i>Streptococcus pyogenes</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
Cellulite	<i>Streptococcus pyogenes</i> <i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Haemophilus influenzae</i> <i>Proteus multocida</i> <i>Enterobacteriaceae</i> <i>Aeromonas spp</i>
Abcès cutanés	<i>Streptococcus pyogenes</i> <i>Staphylococcus aureus</i>	
Furoncles	<i>Staphylococcus aureus</i>	
Folliculites	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>

(**Denis et al., 2007**)

Suppurations profondes :

- Abcès : Poche de pus bien délimitée constituée au sein d'un tissu à la suite d'une inflammation. Un abcès est une accumulation locale de pus après nécrose dans une cavité néoformée. Un abcès superficiel peut présenter des symptômes comme rougeur, douleur et chaleur (composantes de l'inflammation). Un abcès peut se former dans n'importe quel tissu de l'organisme (peau, muscle, œil, vessie, intestin, cerveau, rein...).
- Suppuration des séreuses : plèvre, péritoine, articulation, péricarde (Dans notre étude nous n'avons pas pris en considération les prélèvements des cavités séreuses : Liquide pleural, péricardique, péritonéal, articulaire, LCR).

Un abcès "chaud" s'accompagne d'inflammation, de douleur, tandis qu'un abcès froid ne s'accompagne pas d'inflammation. Il est d'origine soit tuberculeuse, soit lié au développement de champignons parasites (**David, 2010**)

Le tableau II résume l'étiologie des abcès :

Tableau II Etiologie des abcès

Etiologie des abcès		
Germes	Enfants	Adultes
Les plus fréquents	<i>Escherichia coli</i> <i>Proteus spp</i> <i>klebsiella spp</i> <i>Enterobacter spp</i> <i>Streptococcus spp</i> <i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Escherichia coli</i> <i>Proteus spp</i> <i>klebsiella spp</i> <i>Enterobacter spp</i> <i>Streptococcus spp</i>

(Denis et al., 2007)

2.4.3- Suppurations secondaires : Infections après effraction accidentelle

- Plaies chirurgicales : Elles sont initialement stériles puis peuvent être secondairement contaminées par la flore du site ou du service hospitalier. Ce sont le plus souvent des surinfections d'origine hospitalière.
- Plaies traumatiques aiguës : Elles sont habituellement surinfectées par les bactéries pyogènes (Flandrois et Chomarat, 1998).
- Brûlures : L'infection représente la complication la plus fréquente et la plus sévère des brûlures graves (elle est responsable de plus de 50% des décès survenant chez les grands brûlés) du fait de l'absence de barrière cutanée et de la dépression immunitaire d'où la nécessité de pratiquer rapidement un recouvrement de la surface cutanée brûlée (Denis et al., 2007)

La microbiologie des suppurations secondaires est représentée dans le tableau III :

Tableau III Microbiologie des suppurations post-traumatiques

Nature de l'infection	Germes usuels
Brûlures	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> <i>Staphylococcus aureus</i> <i>Streptococcus pyogenes</i>
Infection du site opératoire	Staphylocoques Bacilles à Gram négatif Entérocoques <i>Pseudomonas aeruginosa</i>

(Denis et al., 2007)

2.4.4- Infection du pied diabétique :

Le terme ``pied diabétique`` regroupe l'ensemble des affections atteignant le pied directement liées aux répercussions du diabète (**Ha Van, 2008**).

Les problèmes de pied diabétique sont les plaies chroniques et les amputations. Selon **Lecornet (2007)**, 20 à 25 % des diabétiques consultent au moins une fois dans leur vie pour une lésion du pied qui nécessite souvent des hospitalisations prolongées,

Du fait de sa situation anatomique en périphérie du système nerveux et artériel, et en raison de son rôle fonctionnel d'interface entre le corps et le sol, le pied d'un patient diabétique est particulièrement vulnérable (**Grimaldi, 2005**).

2.4.5- Suppurations nosocomiales :

Les infections opportunistes constituent une préoccupation importante en infectiologie. Quand elles ont été contractées en milieu hospitalier par un patient qui a été admis pour une autre raison, on les qualifie de nosocomiales. Ces dernières représenteraient selon l'OMS une des causes principales de morbidité et de mortalité chez les hospitalisés (**Hocquet-Berg et py, 2006**).

Les suppurations nosocomiales peuvent s'expliquer par plusieurs facteurs :

- La désinfection inadéquate de la peau avant l'intervention chirurgicale ou l'emploi d'antiseptiques contaminés
- L'absence de mesures aseptiques au cours du changement de pansement.
- La longue durée d'hospitalisation surtout chez les personnes diabétiques.
- La chronicité de la lésion et la lenteur de la cicatrisation.
- L'administration d'antibiothérapie probabiliste large (**Regnaul, 2002 ; Grimaldi, 2005 et Stahet al., 2007**).

2.4.6- Les « Faux pus »:

Il existe également les faux pus ; de constatations exceptionnelle on en trouve parfois dans certains kystes congénitaux du cou, secondairement enflammés. Une ponction de ce pus, d'aspect épais ayant toutes les apparences du pus est finalement après examen qu'un amas de cellules épithéliales issues de la desquamation (**Christol, 1978**).

3- PRINCIPAUX MICROORGANISMES ISOLÉS À PARTIR DES PRELEVEMENTS DE SUPPURATIONS :

Le pus est l'aboutissement ultime de l'inflammation aigüe : il est formé de pyocytes, qui sont les cadavres des leucocytes polynucléaires, tués par la pullulation des germes et les poisons d'origine bactérienne (Toxines) Il est donc facile de le reconnaître à l'examen cytologique en raison de la morphologie caractéristique des polynucléaires. Toutefois ceux-ci peuvent être assez altérés et dégradés pour devenir méconnaissables (**Christol, 1978**).

3.1- Bactéries

L'interprétation bactériologique d'une suppuration permet d'étudier les espèces suivantes :

3.1.1- Cocci à Gram positif :

Les cocci Gram+ font partie des flores commensales de la peau et des muqueuses chez l'homme. De ce fait, ils sont fréquemment isolés en bactériologie médicale, le problème est de distinguer lorsqu'une culture est positive, entre une situation pathogène et une contamination de l'échantillon par une bactérie commensale, (**Denis et al., 2007**).

Staphylocoques :

Les staphylocoques sont des cocci à Gram+, immobiles, qui tendent à se grouper en amas (**Nauciel et Vilde, 2005**).

Les Staphylocoques ont été découverts dans un pus par Pasteur en 1880. En 1883, Ogston a créé le nom de « Staphylocoque » pour décrire ces grains (kokkos) groupés en amas irréguliers à la façon d'une grappe de raisin (staphylos). En 1884, Rosenbach a obtenu des cultures pures de ces bactéries. Il a scindé le genre *Staphylococcus* en deux groupes selon que les colonies étaient blanches ou dorées (**Avril et al., 1992**).

Toutes les espèces possèdent une catalase et se développent en aérobiose.

Les infections staphylococciques sont très fréquentes et ont, pour la plupart, une porte d'entrée cutanée. En effet, les staphylocoques sont bien équipés pour coloniser la peau, car ils peuvent pousser à des concentrations élevées de sels et de lipides (**Schaecter et al., 1991**).

Le genre *Staphylococcus* occupe une place très importante en pathologie humaine et animale (**Avril et al., 1992**).

- ***Staphylococcus aureus* :**

La bactérie se cultive facilement sur les milieux usuels et aussi sur des milieux riches en NaCl. Elle doit son nom d'espèce à l'aspect pigmenté de ses colonies. Elle possède une coagulase (enzyme provoquant la coagulation du plasma), ce qui la distingue de la plupart des autres espèces de staphylocoques, elle peut produire de nombreuses toxines (**Nauciel et Vilde, 2005**).

Les infections à *Staphylococcus aureus* résistants à la méticilline (SARM) occupent une place prépondérante dans les infections nosocomiales, (Grojean et al., 2009)

- **Autres staphylocoques :**

Ils sont parfois désignés sous le nom de staphylocoques à coagulase négative (Nauciel et Vilde, 2005). Les staphylocoques à coagulase négatives ne sont identifiés complètement que lorsque les circonstances de leur isolement indiquent qu'ils sont potentiellement en situation de jouer un rôle de pathogènes (Avril et al., 1992).

Ce groupe comprend deux principales espèces :

Staphylococcus epidermidis : c'est un commensal de la peau et des muqueuses. Il peut contaminer des prélèvements superficiels et même des prélèvements obtenus par ponction transcutanée. Ils sont essentiellement responsables d'infections nosocomiales. Les souches acquises en milieu hospitalier sont souvent très résistantes aux antibiotiques (Nauciel et Vilde, 2005)

Staphylococcus saprophyticus : Il n'est responsable que d'infection urinaire chez les jeunes femmes (Schaechter et al., 1991).

Les caractères différentiels des espèces de *Staphylococcus* sont représentés dans le tableau IV :

Tableau IV: Caractères différentiels des principales espèces de Staphylocoques ayant un rôle potentiellement pathogène

Caractères biochimique	<i>S.aureus</i>	<i>S.epidermidis</i>	<i>S.saprophyticus</i>
Catalase	+	+	+
Coagulase	+	-	-
Résistance à la novobiocine (disque 5µg)	-	-	+ a
Nitrate réductase	+	+	-
phosphatase	+	+	-
D-mannitol (acidification)	+	-	+
Dnase thermostable	+	-	-

a : diamètre de la zone d'inhibition < 16mm

(Avril et al., 2000)

Les streptocoques :

Les bactéries appartenant au genre *Streptococcus* sont des cocci à Gram positif se disposant en chaînettes plus au moins longues. Elles ont un métabolisme aéro-anaérobie, mais peuvent être cultivées en présence d'air. Leur culture nécessite habituellement des milieux riches tels que les géloses au sang frais et cuit (**Nauciel et Vilde, 2005**)

La classification des streptocoques se base sur plusieurs éléments :

- Le caractère de l'hémolyse entourant les colonies sur une gélose au sang. On distingue les streptocoques β -hémolytique produisant une hémolyse complète, et les streptocoques α -hémolytique produisant une hémolyse incomplète et les streptocoques non hémolytiques.
- La caractérisation d'un antigène polysaccharidique de la paroi permet ensuite de situer les streptocoques parmi les groupes sérologiques de Lancefiels (A, B ; C ...).
- L'identification est complétée au besoin par l'étude de caractères biochimiques (**Nauciel et Vilde, 2005**).

Le genre *Streptococcus* comprend de nombreuses espèces dont l'habitat et le pouvoir pathogène peuvent différer considérablement. Plusieurs espèces tiennent une place très importante dans la pathologie infectieuse communautaire (**Nauciel et Vilde, 2005**).

- ***Streptococcus pyogenes* ou Streptocoque du groupe A :**

La bactérie est présente essentiellement chez l'homme. Son habitat habituel est le pharynx, mais on peut la trouver également sur la peau. Beaucoup de sujets sont des porteurs sains (**Nauciel, 2000**)

Les streptocoques A sont responsables d'infections ORL et cutanées avec manifestations secondaire non infectieuses de type rhumatisme articulaire aigu (**Gayraud et Lortholary, 2005**)

Elles donnent sur gélose au sang frais des colonies petites (0,5mm), transparentes et β -hémolytiques (**Avril et al., 2000**).

- ***Streptococcus agalactiae* ou streptocoques du groupe B :**

Il est responsable chez l'adulte d'infections génitales, urinaires, parfois septicémiques et chez le nouveau-né, d'infections néonatales (septicémie et méningites) (**Gayraud et Lortholary, 2005**).

Cultivé sur gélose au sang frais il donne des colonies plus grandes d'environ 1 à 2 mm de diamètre, bombées, opaques et β -hémolytiques (**Denis et al., 2007**).

- **Streptocoques des groupes C et G :**

Ce sont des streptocoques β -hémolytiques. Ils peuvent provoquer des infections comparables à celles produites par le groupe A mais pas les complications post-streptococciques (**Nauciel et Vilde, 2005**).

- **Streptocoques du groupe D et Entérocoques :**

Ils sont responsables d'infections systémiques (endocardites) et se caractérisent par leur résistance habituelle aux antibiotiques (**Gounelle de Pontanel et Loraux,**

1990). Les colonies sont plus grandes que celles des autres streptocoques de couleur grise ou gris-blanc, bombées, ne produisent pas d'hémolyse (Denis et al., 2007).

- **Streptocoques non groupable :**

D'autres streptocoques ne possèdent pas l'antigène polysaccharidique ce sont les streptocoques non groupables.

-Streptocoques oraux : non hémolytiques ou α -hémolytiques (ces derniers appelés parfois *Streptocoques viridans*) sont des commensaux de la cavité buccale, ce sont des bactéries le plus fréquemment impliquées dans les endocardites et dans les infections bucco-dentaires (Nauciel et Vilde, 2005).

S.gordonii, *S.sanguinis*, *S.parasanguinis*, *S.oralis*, *S.mutans*, *S.salivarius*,... Ce sont des espèces proches génétiquement dont l'identification phénotypique est difficile (Clavé et al., 2009).

- *Streptococcus pneumoniae* : il est strictement humain, et 50% de personnes sont porteur de cette bactérie au niveau du rhinopharynx. Il est responsable de méningite et d'infection ORL, donnant des colonies α -hémolytiques, l'identification par des galeries miniaturisées est difficile. *S.pneumoniae* a un profil très proche de celui de *S.mutans* ou *S.oralis* (Clavé et al., 2009).

3.1.2- Bacilles à Gram négatif :

Entérobactéries :

Les entérobactéries constituent une très vaste famille qui représente près de trois quarts des isollements d'un laboratoire de bactériologie médicale. Ce sont pour la plupart des hôtes du tractus digestif mais certaines espèces, telles les *Serratia* sont rencontrées d'une manière prépondérante dans le milieu extérieur (Denis et al., 2007).

Ce sont des bacilles droits, immobiles ou mobiles par une ciliature péritriche de culture aisée, aéro-anaérobies facultatifs, fermentaires, oxydase négative, catalase positive, nitrate réductase positive (Denis et al., 2007).

- ***Escherichia coli* :**

Isolée pour la première fois par Escherich en 1885, *Escherichia coli* est l'espèce bactérienne qui a été la plus étudiée par les fundamentalistes pour des travaux de physiologie et de génétique (Avril et al., 1992).

C'est un commensal de l'intestin de l'homme et des animaux représentant l'espèce aérobie quantitativement la plus importante de la flore digestive. Elle provoque des infections intestinales. Les souches responsables d'infections extra-intestinales sont isolées principalement d'infections urinaires, infections materno-fœtales, de prostatites et de suppurations diverses à partir de la flore digestive. Toutes ces infections peuvent se compliquer de septicémies (Nauciel et Vilde, 2005).

E.coli se développe en 24 heures à 37°C sur les milieux gélosés en donnant des colonies rondes, lisses, à bords réguliers, de 2 à 3 mm de diamètre, non pigmentées. Sur les milieux lactosés, les colonies sont généralement lactose positif. Sur gélose au sang elles peuvent être hémolytiques (Avril et al., 1992).

- **Klebsiella – Enterobacter – Serratia :**

Dans le groupe Klebsiella – Enterobacter – Serratia, dit K.E.S ; sont rassemblées des Enterobacteriaceae qui ont en communs les caractères suivants :

-La réaction de Voges-Proskauer (VP) est généralement positive.

-Ce sont des bactéries pathogènes opportunistes ; peu virulentes par elles-mêmes, elles se rencontrent peu en pratique extrahospitalières. Elles sont Opportunistes car elles sont responsables d'infections hospitalières nosocomiales chez les malades débilisés.

-Ces espèces sont souvent multi résistantes aux antibiotiques, la fréquence avec laquelle on les rencontre est d'autant plus grande que la pression de sélection par des antibiotiques à large spectre est forte (Avril et al., 1992).

- **Proteus :**

Ce genre est représenté par les espèces *Proteus mirabilis*, *Proteus vulgaris*, *Proteus penneri*.

Ce sont des bacilles très mobiles, pourvues de longs flagelles et qui produisent un envahissement des milieux gélosés qui s'étend par vagues (phénomène de swarming ou essaimage) (Joly et Reynaud, 2003).

Proteus est responsable de nombreuses infections chez l'homme, en particulier chez les hospitalisés (plaies chirurgicales, abcès de peau et des tissus) (Joly et Reynaud, 2003).

- **Citrobacter :**

Ce sont des bactéries présentes dans l'environnement, commensales de l'intestin, pouvant intervenir dans des gastro-entérites ; le plus souvent, elles sont pathogènes opportunistes, responsables d'infection nosocomiales (Delarras, 2007).

Les caractères biochimiques des Entérobactéries sont représentés dans le tableau V.

Tableau V Principaux caractères biochimiques des Entérobactéries isolées.

	ONPG	ADH	LDC	ODC	CIT	H2S	UREE	TDA	IND	VP
<i>Escherichia coli</i>	+	-	+	+	-	-	-	-	+	-
<i>Klebsiella oxytoca</i>	+	-	+	-	+	-	+	-	+	+
<i>K.pneumoniae</i>	+	-	+	-	+	-	+	-	-	+
<i>Proteus mirabilis</i>	-	-	-	+	+	+	+	+	-	-
<i>P.vulgaris</i>	-	-	-	-	+ -	+	+	+	+	-
<i>P.rettgeri</i>	-	-	-	-	+	-	+	+	+	-
<i>Enterobacter cloacae</i>	+	+	-	-	+	-	-	-	-	+
<i>Serratia marcescens</i>	+	-	-	+	-	-	-	-	-	+
<i>Citrobacter freundii</i>	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-

(Le Minor et Viron, 1989)

Autres bacilles Gram négatif :

Diverses espèces bactériennes provenant de l'eau ou de milieux humides peuvent coloniser et éventuellement infecter l'homme. Leur place est très importante dans les infections nosocomiales (Nauciel, 2001).

- ***Pseudomonas* :**

Les *Pseudomonas* sont des bacilles mobiles (à ciliature polaire), aérobies stricts, se cultivant facilement sur les milieux usuels (Nauciel et Vilde, 2005).

Pseudomonas aeruginosa (ou bacille pyocyanique) se caractérise par la pigmentation bleu-vert de ses colonies et par sa résistance aux antibiotiques et aux antiseptiques (Avril et al., 2000)

En fonction de la nature des antigènes O (portés par le lipopolysaccharide) on peut distinguer différents sérotypes (Nauciel et Vilde, 2005).

C'est un germe typique des infections nosocomiales, c'est donc une bactérie pathogène opportuniste qui peut provoquer des infections urinaires, bronchiques, pulmonaires, des septicémies, et des endocardites (Flandrois et al., 1997).

C'est grâce à sa faculté d'adaptation et à leur résistance constitutive ou acquise à de nombreux antibiotiques usuels qu'ils ont pu s'installer dans l'environnement hospitalier (Schaechther et al., 1999).

Il peut aussi surinfecter des lésions cutanées (brûlures) des plaies traumatiques ou postopératoires (Nauciel et Vilde, 2005).

Le profil biochimique de *Pseudomonas aeruginosa* est rapporté dans le Tableau VII.

Tableau VI Profil biochimique de *Pseudomonas aeruginosa*.

Tests	ONPG	LDC	ODC	ADH	GEL	H ₂ S	TDA	UR11	CIT	VP	MOB
<i>P.aeruginosa</i>	-	-	-	+	+	-	-	-	+	-	+

(Le Minor et Viron, 1989)

- ***Acinetobacter* :**

Ce sont des coccobacilles saprophytes de l'eau et du sol, qui peuvent constituer aussi un des éléments de la flore normale de l'homme sain (Peau, voie aériennes supérieures) leur présence dans l'environnement hospitalier les rendent responsables d'infections nosocomiales, la peau représente le site de prédilection initial de la colonisation (Raoult, 1998).

3.2- Les levures :

Les levures sont actuellement très simplement définies comme le stade unicellulaire des champignons (**Vaubourdolle, 2006**).

- **Candida :**

Les candidoses sont des affections cosmopolites dues à des levures appartenant au genre *Candida*. De nombreuses espèces existent dans la nature mais quelques-unes seulement intéressent la mycologie médicale (**Vaubourdolle, 2006**).

Candida albicans est l'espèce la plus fréquemment rencontrée chez l'homme, c'est un commensal des muqueuses, en particulier de la muqueuse digestive (**Vaubourdolle, 2006**). C'est une levure non pigmentée, non capsulée, sa présence sur la peau n'est pas inhabituelle, mais peuvent provoquer un état pathologique (**Moulinier, 2003**).

La reproduction se fait par bourgeonnement, la culture sur milieu de sabouraud additionner d'antibiotiques permet d'obtenir des colonies blanchâtres crémeuses après 24 à 48 heures à 30°C (**Dedier, 1998**).

I.4- Antibiothérapie et antibiorésistances :

I.4.1- Antibiotiques :

Les antibiotiques antibactériens sont des molécules qui inhibent sélectivement certaines voies métaboliques des bactéries sans exercer habituellement d'effets toxiques pour les organismes supérieurs. Les antibiotiques au sens strict, sont des produits élaborés par des microorganismes, mais on inclut généralement parmi eux des dérivés semi-synthétiques et les produits entièrement synthétiques (**Perronne, 1999**).

Aux concentrations thérapeutiques, certains antibiotiques ont un effet bactériostatique, d'autre un effet bactéricide. Pour un antibiotique donné, cet effet ne s'exerce que vis-à-vis de certaines espèces bactériennes, ce qui définit son spectre d'activité (**Perronne, 1999**).

Les antibiotiques comptent parmi les découvertes thérapeutiques majeures du vingtième siècle et ont fondamentalement modifié l'évolution de nombreuses maladies, réduisant la mortalité et la morbidité. D'autre part les antibiotiques font partie des médicaments les plus prescrits en partie à cause de l'excellente innocuité de nombre d'entre eux (**Page et al., 1999**).

IV.2 Spectre d'action des antibiotiques :

Le spectre d'action caractérise un antibiotique (**Stora, 2010**). Aucun antibiotique n'est efficace contre toutes les bactéries, un antibiotique à spectre large est actif sur de nombreuses bactéries à Gram + et à Gram -, alors que l'efficacité d'un antibiotique à spectre étroit est limitée à un nombre restreint d'espèces (**Canu et François, 2001**).

- On utilise un antibiotique à spectre large lorsque le germe n'est pas identifié et que la pathologie peut être due à différents type de germes. A titre d'exemple, une angine peut avoir comme cause plusieurs germes différents, un antibiotique à spectre large tel que la pénicilline A est nécessaire.
- On utilise un spectre étroit pour cibler un germe et une pathologie. Dans le cas des furoncles sont dus à un staphylocoque, on utilise un antibiotique à spectre étroit, uniquement anti staphylococcique (**Stora, 2010**).

I.4.3- Mécanismes de résistance :

Les antibiotiques mécanismes d'action qui leur permettent d'être efficaces sur la gamme entière des bactéries.

- Action sur la paroi de la bactérie : l'antibiotique bloque l'assemblage des éléments protidiques et lipidiques constituant la paroi de la bactérie.
- Action sur l'ADN ; L'antibiotique bloque la réplication.
- Action sur la synthèse protéique : La traduction des protéines est faussée.
- Les anti-métabolites ; Bloque la synthèse des acides nucléiques (**Stora, 2010**).

I.4.4- Classification des antibiotiques :

La classification par familles tient compte de la composition chimique des molécules en relation avec leur mode d'action étudié à l'échelon moléculaire au niveau des différentes structures de la cellule bactérienne (**Boulaïbal, 2006**).

I.4.5- Résistance aux antibiotiques :

La résistance bactérienne est la faculté que possède une bactérie à pouvoir croître en présence d'un antibiotique (**Stora, 2010**).

L'extension puis la généralisation de l'emploi des antibiotiques, ont exercé une énorme pression de sélection sur la flore bactérienne (**Eyquem et al., 2000**). L'excès de consommation des antibiotiques contribue de façon significative aux problèmes internationaux de la croissance des résistances bactériennes (**Page et al., 1999**).

Selon **Kayser et al., (2008)** , la problématique de la résistance bactérienne aux antibiotiques en médecine est rattaché à deux causes :

- Une variation génétique impressionnante des bactéries qui, en fin de compte, pourrait rendre les bactéries résistante à n'importe quel anti-infectieux.
- Une dissémination de souches bactériennes résistantes souvent multi résistantes.

IV.6- Types de résistances :

La résistance d'emblée : le germe se trouve à l'état naturel depuis très longtemps résistant à l'antibiotique, par exemple les bacilles Gram – sont résistant à la pénicilline G.

La résistance acquise : Il s'agit d'un germe qui normalement était sensible à l'antibiotique et lui devient résistant au cours du temps, la résistance peut apparaître après un traitement mal suivi, si le même antibiotique est prescrit ultérieurement (cas des infections urinaires mal suivies) (**Stora, 2010**). Cette résistance à été acquise soit par mutation chromosomique soit par acquisition de gènes étrangers portés par des éléments mobiles transférables, plasmides et transposons présents chez d'autres espèces (**Boulaïbal, 2006**).

Chapitre II : Matériel et méthodes

Il s'agit d'une étude prospective qui a porté sur 110 prélèvements de suppurations d'origine très diverse chez des patients hospitalisés et non hospitalisés au niveau de l'EPH de Kolea durant la période allant de Février à Juin 2013.

La recherche des anaérobies n'a pas été faite du fait du manque de matériel de l'étude des anaérobies au niveau du laboratoire.

II.1- Matériel :

II.1.1- Matériel biologique :

Le produit biologique est représenté essentiellement par les différentes suppurations provenant des patients.

Au cours de l'analyse microbiologique de ce pus on a utilisé du sang ; du plasma et du sérum humain et des souches de références (ATCC) ;

- ATCC *Staphylococcus aureus* 25923.
- ATCC *Escherichia coli* 25922.
- ATCC *Staphylococcus aureus* 43300.
- ATCC *Pseudomonas aeruginosa* 27853.

II.1.2- Matériel non biologique:

C'est le matériel classique utilisé au laboratoire de microbiologie. Il est représenté essentiellement par :

Les écouvillons et les seringues avec lesquels les prélèvements ont été réalisés.

L'appareillage, la verrerie, les réactifs, les solutions, les milieux de culture et les antibiotiques.

II.2- Méthodes :

Le diagnostic microbiologique des suppurations repose sur les étapes suivantes :

- Examen direct avec coloration.
- Mise en culture du prélèvement.
- Isolement et identification des bactéries.
- Etude de sensibilité aux antibiotiques des bactéries isolées.

II.2.1- Prélèvement :

Les prélèvements sont d'origine très diverse. La mise en évidence des bactéries pathogènes dépend de la localisation de la suppuration (proche ou non d'une flore commensale), du mode de prélèvement (écouvillon, seringue) et du mode de transport.

II.2.1.1-Méthodes de prélèvement : Le prélèvement se fait :

- Soit par écouvillonnage superficiel de la plaie, la méthode la plus utilisée.
- Soit à l'aide d'une seringue purgée d'air dans le cas d'une cavité fermée ou profonde en évitant toute contamination par la flore commensale.

Le produit pathologique étant souvent polymicrobien, il est important d'éviter pendant le transport qu'une bactérie puisse se développer au détriment d'une autre.

Le produit pathologique est lui même un excellent milieu de transport, si la quantité prélevée à la seringue est supérieure à 2 ml, et si le patient n'a pas reçu d'antibiotique.

II.2.1.2- Transport et fiche de renseignement :

Les prélèvements ont été réalisés aux différents services de l'EPH de Koléa, pour les malades hospitalisés et dans la salle des soins pour les malades non hospitalisés.

Chaque prélèvement est étiqueté, il est mentionné le nom et le prénom du malade, la date et l'heure du prélèvement. Une fiche de renseignement bien remplie accompagne toujours le prélèvement.

Le prélèvement est alors transmis le plus rapidement possible au laboratoire de microbiologie.

Les méthodes de prélèvements sont schématisées dans la figure 01.

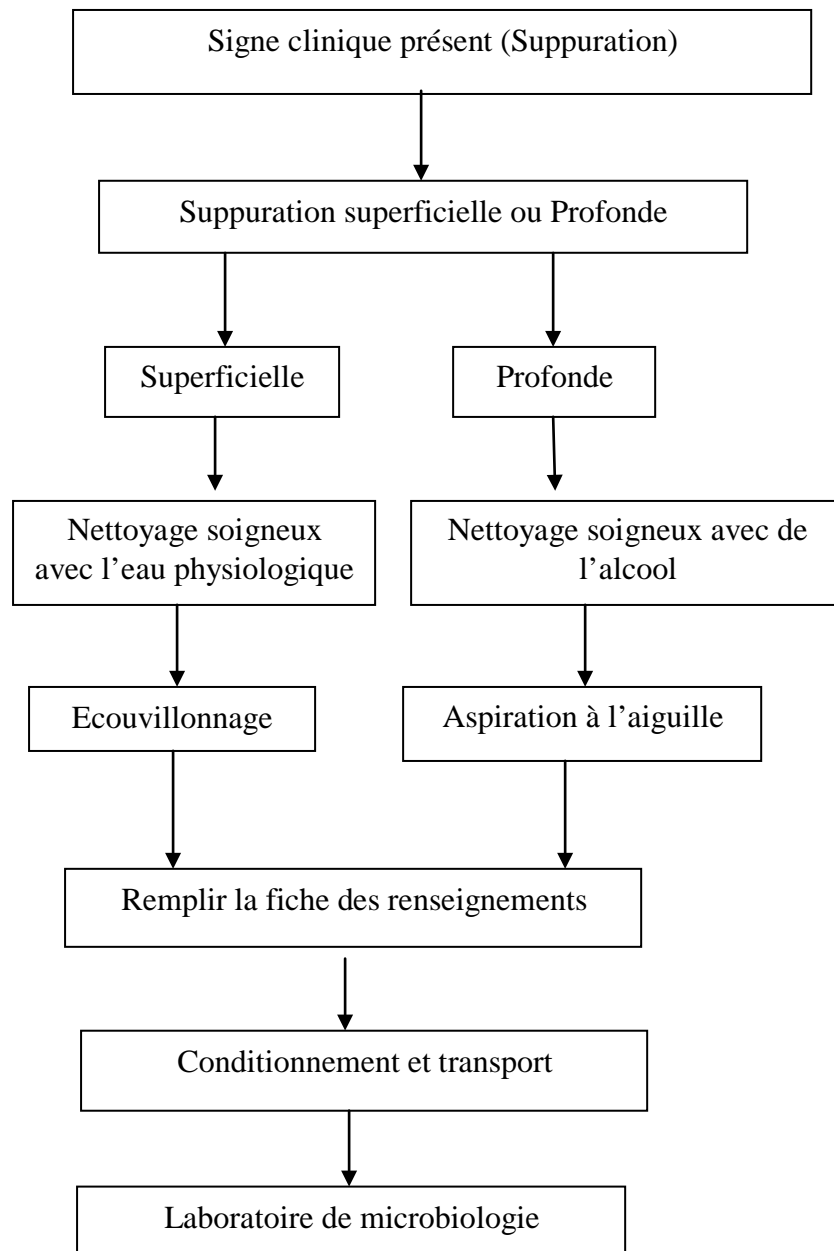


Figure1 : Schématisation des prélèvements à pratiquer en fonction du type des suppurations

II.2.2- Examen microbiologique d'une suppuration:

Avant de procéder à l'analyse, on doit d'abord vérifier la conformité de l'échantillon, s'assurer que le nom inscrit sur la fiche est identique à celui étiqueté sur le prélèvement.

Si le prélèvement est réalisé par écouvillonnage, trois écouvillons du même malade sont alors adressés au laboratoire, un est destiné à l'examen microscopique, un pour la culture bactérienne et un autre pour la culture mycologique.

II.2.2.1- L'examen macroscopique:

On note la consistance, la couleur, l'aspect, ainsi que la viscosité du pus.

Le pus peut être épais, visqueux, élastique, mélangé à du sang ou non, fluide ou séreux.

La couleur varie de la teinte chocolat au blanc, certains pus sont verdâtre ou bleutés et selon **Carbonelle et al., (1998)** :

- Un pus jaune, épais bien lié oriente vers le staphylocoque.
- Un pus clair, séreux, blanchâtre, oriente vers un streptocoque.
- Un pus verdâtre ou bleuâtre, oriente vers le bacille pyocyanique.
- Un pus brunâtre, malodorant, oriente vers les anaérobies.
- Un pus rouge est dû à un mélange avec le sang.

II.2.2.2- Examen microscopique :

L'examen microscopique est fondamental, il permet d'orienter le diagnostic. Dans tous les cas, il permet d'envisager la suite des examens à effectuer.

Réalisation d'un frottis :

Technique :

Utiliser une lame propre et dégraissée (passage à la flamme)

Étaler une goutte de culture liquide ou une goutte de suspension bactérienne (colonie + eau) en faisant des mouvements circulaires avec l'anse de platine :

Décrire une spirale en partant du centre vers l'extérieur puis l'inverse.

Séchage de préférence **à la température du laboratoire** (un séchage trop brutal altère souvent la structure bactérienne).

L'examen direct après coloration au bleu de méthylène :

Une coloration au bleu de méthylène est indispensable, elle nous permet d'observer la richesse microbiologique de l'échantillon en indiquant le nombre relatif de leucocytes et la présence de cellules épithéliales (indiquant une contamination de surface), ainsi que l'abondance relative des différents types de bactéries.

- **Technique :**

Sur un frottis correctement fixé à la chaleur, on recouvre toute la lame par la solution de bleu de méthylène. Après un temps de réaction de 1 à 2 heures (ce temps dépend de la concentration du colorant), on rince abondamment à l'eau puis le frottis est séché et observé au microscope objectif à immersion x100.

- **Lecture :**

Tous les éléments cellulaires et les bactéries apparaissent colorés en bleu.

II.2.2.3- Mise en culture :

C'est l'étape la plus importante dans le diagnostic bactériologique et mycologique, elle est effectuée par l'ensemencement des prélèvements sur les différents milieux suivants :

Milieu ordinaire : Gélose nutritive (GN)

Milieux enrichies : Gélose au sang frais (GSF) et Gélose au sang cuit (GSC).

Milieux sélectifs : Gélose Chapman et Gélose Héктоen.

Milieu Sabouraud au chloramphénicol, Sabouraud chloramphénicol et l'actidione.

A)- L'ensemencement :

Après le séchage des milieux de culture coulés en boîte de Pétri, l'ensemencement se fait comme suit :

- Pour les prélèvements par écouvillonnage : On frotte le bout de l'écouvillon préalablement imbibé dans un bouillon nutritif (: *Bouillon Glucose Tamponné* BGT ou le bouillon *Brain Heart Infusion* BHIB.) sur le premier cadran de la gélose, l'ensemencement se fait en quatre cadrans à l'aide d'une anse de platine.

-Pour les prélèvements à la seringue ; on dépose une goutte de la suppuration sur la gélose, puis on ensemence le reste des cadrans.

-Pour les milieux Sabouraud coulés en tubes ; on frotte l'écouvillon sur la gélose pour les écouvillons ou on dépose quelques gouttes du prélèvement dans le cas des prélèvements faits à la seringue.

B)- L'incubation :

-La gélose nutritive, les milieux sélectifs sont incubés à 37°C en atmosphère normale pendant 24 heures.

-Les milieux enrichis au sang sont incubés à 37°C dans une atmosphère enrichie en 5% de CO₂ ,24 à 48 heures pour favoriser la multiplication de certaines bactéries exigeantes.

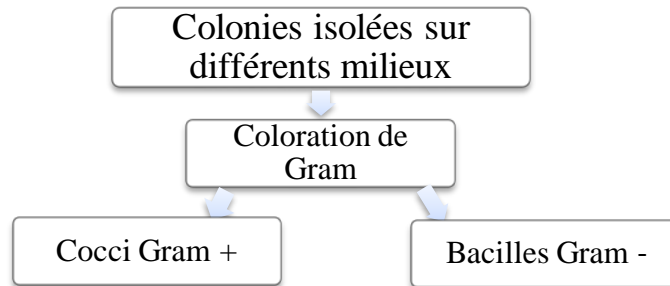
-Les milieux Sabouraud sont incubés à 30°C, pendant 24 à 48 heures.

II.2.2.4- Lecture et identification :

A l'exception des contaminants de l'environnement ou de la peau (telles que les *Staphylococcus à coagulase négative*, les *Corynebacterium sp*, *Bacillus sp*) toutes les bactéries isolées de blessures, de pus ou autres exsudats doivent être considérées comme significatives et doivent être identifiées.

Dans le cas de la culture polymicrobienne, les différents types de colonies sont purifiés par un réisolement, pour les cultures monomicrobiennes on procède directement à l'identification.

L'identification se fait comme suit (voir les diagrammes ci dessous)



Les étapes de l'identification des bacilles à Gram – sont représentées dans la figure 2

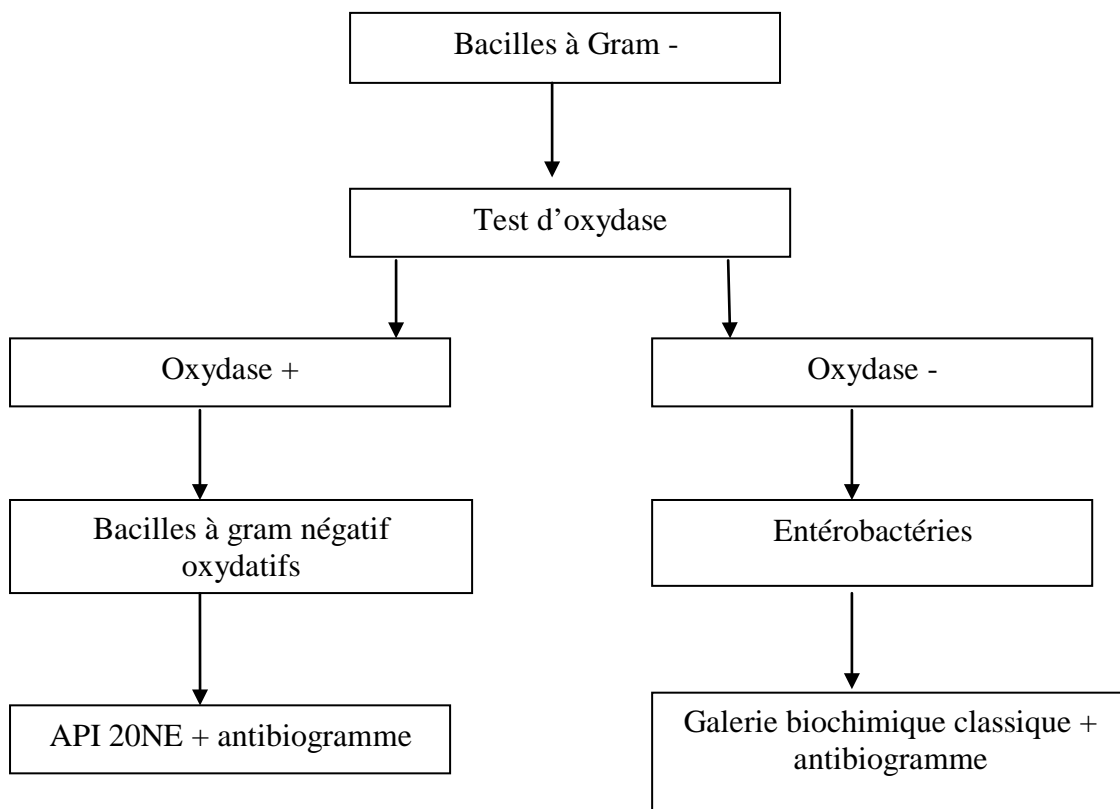


Figure 2 : Identification des bacilles à Gram négatif

Les étapes de l'identification des Cocci à Gram + sont représentées dans la figure 3

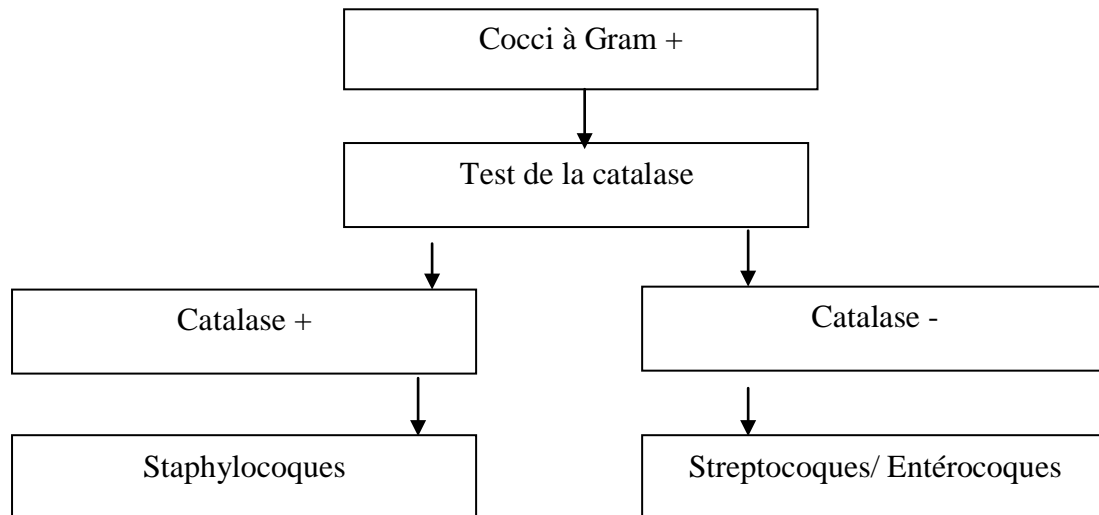


Figure 3 : Identification des cocci à Gram positif

Les étapes de l'identification des Staphylocoques sont représentées dans la figure 4

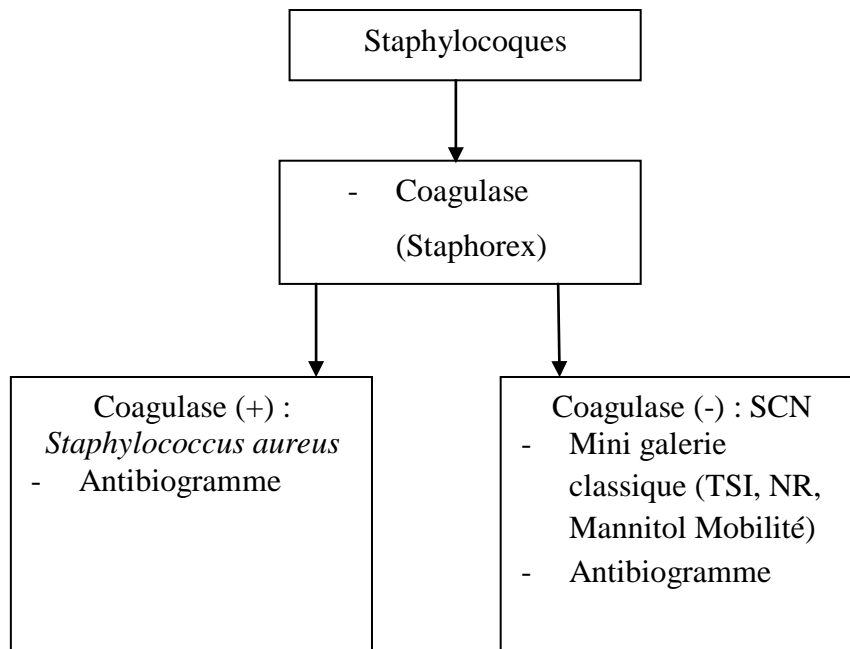


Figure 4 : Identification des staphylocoques

Les étapes de l'identification des Streptocoques sont représentées dans la figure 5

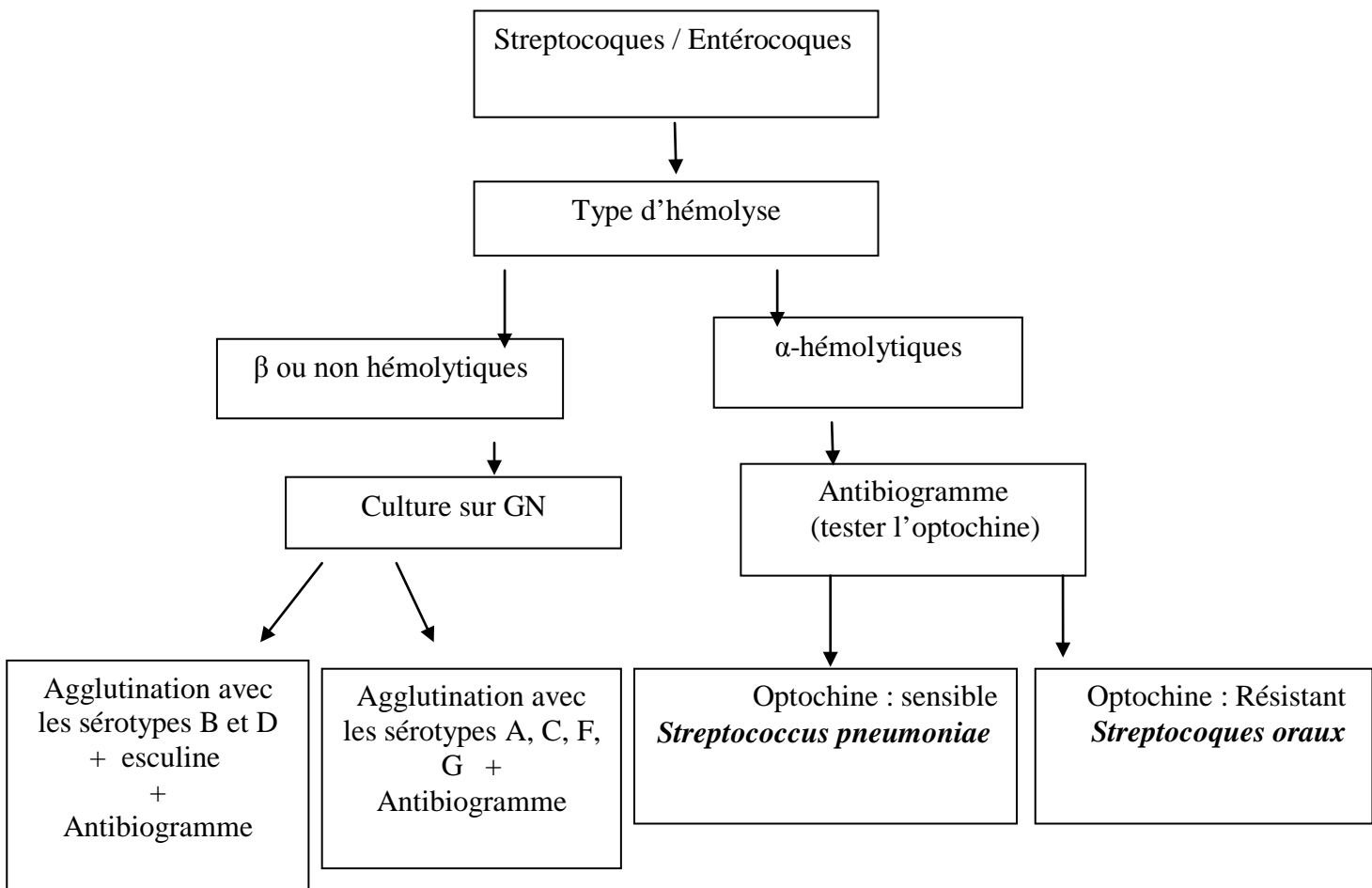


Figure 5 : Identification des Streptocoques / Entérocoques

On s'est contenté de citer dans les diagrammes uniquement les tests biochimiques disponibles au laboratoire de microbiologie terrain de notre stage.

A)- Tests d'identification microscopique :

- **Coloration de Gram :**

Sur chaque colonie isolée on réalise une coloration de Gram. La taxonomie bactérienne est fondée sur la coloration de gram, elle rend compte de la différence de composition chimique de la paroi de deux groupes de bactéries (les bactéries Gram+ et les bactéries Gram -), de leur morphologie ainsi que de leur mode de groupement. C'est la coloration de référence en bactériologie.

- **Technique :**

- Préparer et fixer un frottis bactérien à la chaleur du bec Bunsen.
- Recouvrir au violet de Gentiane (coloration primaire) pendant une minute, jeter le violet de Gentiane.
- Ajouter le Lugol (Fixateur), laisser agir pendant une minute, jeter l'excès par l'eau courante.
- décolorer à l'alcool (70°), la lame tenue inclinée. La durée de décoloration est suffisante lorsque ce qui s'écoule en bas de la lame inclinée est devenu clair. Stopper la décoloration par un rinçage à l'eau.
- Recolorer à la Fushine pendant 30 secondes à 1 minute, rinçage à l'eau puis séchage.

- **Lecture :**

L'observation se fait à l'objectif (x100) en ajoutant de l'huile à immersion.

Les bactéries Gram positif se colorent en violet alors que les Gram négatif se colorent en rose

B) -L'identification biochimique :

Bien que les tests biochimiques constituent une approche classique pour l'identification des bactéries, il n'en demeure pas moins qu'ils sont particulièrement utiles pour la détermination de certaines espèces et sous-espèces de bactéries pathogènes. Grace à ces tests, il est possible de connaître certaines caractéristiques du métabolisme des bactéries isolées.

1- Etude du métabolisme respiratoire :

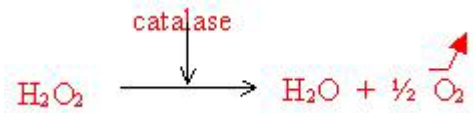
- **Recherche de la catalase :**

- **Principe :**

Pendant leur respiration aérobie, certaines bactéries produisent du peroxyde d'hydrogène (H₂O₂).

Celui ci est très toxique et certaines bactéries sont capables de le dégrader grâce à des enzymes qu'elles synthétisent et notamment la catalase.

Cette enzyme est capable de décomposer l'eau oxygénée selon la réaction :



Sa recherche est nécessaire pour les bactéries à Gram positif, spécifiquement les cocci.

- **Technique :**

- Sur une lame propre et sèche déposer une goutte d'eau oxygénée à 10 V;
- à l'aide d'une pipette Pasteur boutonnée, ajouter la colonie de bactérie.
- observer immédiatement.

Il est conseillé de ne pas prélever la culture sur une gélose au sang, car la présence du sang pourrait provoquer une réaction faussement positive.

- **Lecture :**

Dégagement de bulles d'air : catalase +.

Absence de bulles d'air : catalase - .

➤ **Recherche de l'oxydase :**

Au cours de la respiration aérobie, l'accepteur final de la chaîne de transport d'électrons est une enzyme dite cytochrome oxydase ou le cytochrome aa₃.

La mise en évidence de celle-ci ne peut se faire que si la bactérie a un cytochrome c.

Les bactéries « oxydase positive » : aérobies strictes ou facultatives, elles possèdent les deux cytochromes C et aa₃.

Les bactéries « oxydase négatives » : aérobies facultatives, elles possèdent le cytochrome aa₃ seul ou bien anaérobies ne possédant aucun cytochrome.

Technique :

Sur une lame, déposer un disque imprégné du réactif (oxalate N-diméthyl paranitrophénylène-diamine), l'imbiber avec une goutte d'eau distillée stérile. Prélever une colonie parfaitement isolée avec une pipette Pasteur boullée et l'écraser sur le disque pendant une dizaine de secondes. Observer immédiatement.

Lecture :

- . Apparition d'une coloration rose violette : oxydase +
- . Absence de coloration rose/violette : souche oxydase -

➤ **Recherche de la nitrate-réductase :**

- **Principe :**

La respiration des bactéries ne s'effectue pas exclusivement sur l'oxygène. Les nitrates (NO₃⁻) peuvent servir d'accepteurs d'électrons pour former des nitrites (NO₂⁻). Parfois la réduction peut être poursuivie jusqu'au stade N₂.

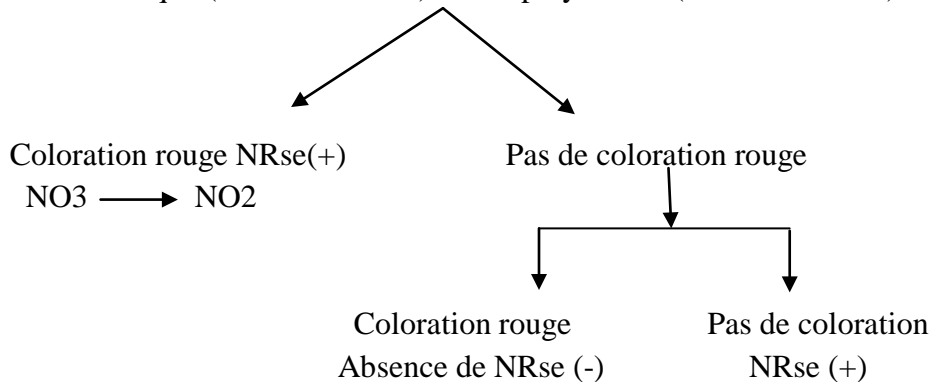
L'utilisation des nitrates comme accepteurs d'électrons nécessite la présence d'une enzyme : la Nitrate Réductase. Elle est mise en évidence par la présence de nitrites ou l'absence de nitrates après incubation de la bactérie sur un milieu nitraté.

- **Technique :**

La mise en évidence de la nitrate réductase se fait par le test de Griess-Ilosway, qui consiste à ensemencer un bouillon nitrate (bouillon nutritif + KNO₃), la révélation se fait en deux temps par réaction de diazotation.

- **Lecture :**

Acide sulfanilique (réactif Nitrate 1) + α -naphtylamine (réactif Nitrate 2)



- **Etude de la voie fermentaire utilisée :**

Principe :

Elle se fait par l'utilisation du bouillon Clark et Lubs, l'acidification du milieu est mise en évidence par l'utilisation de deux tests :

- Le test du rouge de méthyle (RM) met en évidence les fermentations acides, en particulier la fermentation des acides mixtes
- Le test de Voges prosckauer (VP) met en évidence la voie du butylène-glycol.

Technique :

-Ensemencer en masse : 2 à 3 gouttes de suspension bactérienne dense sur le milieu Clarck et Lubs.

-Incuber à 37°C pendant 24 heures.

Lecture :

Après l'incubation, il faut dans un premier temps diviser en deux le contenu du milieu Clarck et Lubs .

Mettre dans un tube quelques gouttes du réactif RM :

- . Coloration rouge : RM+
- . Coloration jaune : RM -

Dans le deuxième tube mettre quelques gouttes du réactif VP1+VP2 :

- . Coloration rouge: VP +
- . Coloration jaune: VP -

Les réactions de VP et RM s'excluent mutuellement, une souche RM+ est habituellement VP- et vice versa.

- **Utilisation du citrate comme seule source de carbone :**

- **Principe :**

Le substrat est le citrate. Il est la seule source de carbone et d'énergie pour la bactérie.

La présence de colonies le long de la strie centrale d'ensemencement sera la preuve d'un développement bactérien ce qui traduira le fait que la bactérie est capable d'utiliser le citrate comme seule source de carbone et d'énergie.

- **Technique :**

La pente du milieu est ensemencée par des stries à partir des colonies à étudier , puis le milieu sera incubé à 37°C pendant 24heures.

- **Lecture :**

Le virage du milieu au bleu indique une réaction positive, la bactérie utilise le citrate.

Pas de virage : la bactérie n'utilise pas le citrate ou bien n'a pas la perméase nécessaire à la pénétration du citrate pour sa dégradation.

1- Etude du métabolisme des glucides :

➤ Utilisation des sucres glucose, lactose, saccharose sur gélose TSI :

Principe :

La gélose TSI (Triple Sugar Iron) permet la mise en évidence rapide de la fermentation du glucose, lactose et saccharose (avec ou sans production de gaz), et la production de sulfure d'hydrogène (H₂S).

Technique :

Ensemencer le culot par piqûre centrale et la surface inclinée par des stries serrées

Incuber à 37°C pendant 24 heures (capsules desserrées) de manière à favoriser les échanges gazeux.

Lecture :

La gélose TSI fournit quatre renseignements principaux :

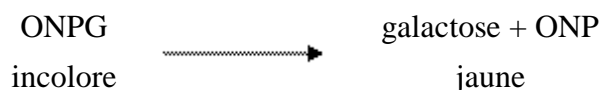
- Fermentation de glucose : Culot jaune : glucose fermenté.
Culot rouge : glucose non fermenté.
- Fermentation du lactose et/ou du saccharose :
 - ✓ Pente inclinée rouge : lactose et saccharose non fermentés.
 - ✓ Pente inclinée jaune : lactose et/ou saccharose fermenté(s).
 - ✓ Production de gaz : apparition de gaz dans le culot avec ou sans décollement de la gélose.
Formation d'H₂S : formation d'une coloration noire entre le culot et la pente ou le long de la piqûre.

➤ Recherche de la bétagalactosidase:

- **Principe :**

C'est une enzyme dégradant le lactose en glucose et galactose. Cette enzyme est intracellulaire et inductible.

Le test consiste à mettre en contact la bactérie avec un analogue structural du lactose (ONPG : Ortho Nitro Phényl Galactoside).



- **Technique :**

Un disque imprégné d'ONPG est introduit dans un tube à essai contenant 0.5ml de la suspension bactérienne déjà préparée.

Incuber le tube à 37°C pendant 24heures.

- **Lecture :**

Une coloration jaune indique un test positif.

- **Test de Mannitol-mobilité :**

- **Principe :**

Le milieu Mannitol-mobilité est un milieu semi-solide contenant entre autres du mannitol, du rouge de phénol comme indicateur de pH. Il permet la recherche simultanément de la fermentation du Mannitol et la mobilité.

- **Technique :**

Le milieu est ensemencé par piqûre centrale jusqu'au fond du tube avec la souche à tester ; puis incubé à 37°C pendant 24 heures.

- **Lecture :**

La fermentation Mannitol entraîne le virage du milieu au jaune.

Les souches mobiles diffusent à partir de la ligne d'ensemencement tandis que les souches immobiles croissent uniquement le long de la piqure.

3- Etude du métabolisme protéique :

- **Recherche des décarboxylases : ODC, LDC, ADH :**

- **Principe :**

Ces enzymes, dont l'action est favorisée par un pH acide et des conditions d'anaérobiose, forment des substances alcalines à partir des acides aminés. Les décarboxylases sont :

- La lysine décarboxylase (LDC)
- L'ornithine décarboxylase (ODC)
- L'arginine dihydrolase (ADH).

- **Technique :**

La recherche se fait sur milieu Moeller-Falkow : milieu liquide contenant du glucose (à faible concentration), l'acide aminé étudié (arginine, lysine, ornithine) et un indicateur coloré le pourpre de bromocrésol.

- T : tube témoin ne contenant pas d'acide aminé.
- LDC : tube contenant de l'Lysine.
- ODC : tube contenant de l'Ornithine.
- ADH : tube contenant de l'Arginine.

Après ensemencement avec une suspension bactérienne, les tubes sont recouverts de vaseline stérile pour créer l'état d'anaérobiose, incubés à 37°C pendant 24h.

- **Lecture :**

-Dans un premier temps il y a acidification du milieu par utilisation du glucose : le milieu vire du violet au jaune.

-Dans un deuxième temps, la décarboxylation de l'acide aminé entraîne une alcalinisation du milieu : virage du jaune au pourpre.

-Le tube témoin doit virer au jaune, car il ne contient pas d'acide aminé.

- **Recherche de l'uréase, tryptophanase, tryptophane désaminase (TDA) :**

- **Principe :**

La recherche de ces enzymes se fait sur milieu Ferguson, appelé aussi : milieu à l'urée, milieu urée-indole.

C'est un milieu liquide contenant de l'urée, du tryptophane, et du rouge de phénol. Non ensemencé ce milieu est de couleur jaune orangée.

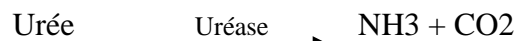
- **Technique :**

Le milieu est ensemencé à partir des colonies à étudier et incubé à 37°C pendant 24 heures.

- **Lecture :**

La lecture se fait en trois étapes :

- ✓ **Uréase :**



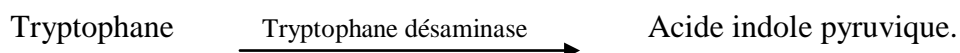
Une coloration rouge violacée indique la dégradation de l'urée en NH₃ (alcalinisation du milieu) et donc la sécrétion d'une uréase par la bactérie : Uréase +.

- ✓ **Tryptophanase (Indole) :**



L'indole est mis en évidence après ajout du réactif de Kovacs, un anneau rouge indique la production d'indole, la bactérie est donc productrice de tryptophanase ou bactérie est indole positif.

- ✓ **TDA :**



L'acide indole pyruvique forme avec le perchlorure de Fer un complexe donnant une coloration ou un précipité brun.

2- Autres tests d'identification biochimique :

- **Recherche de la coagulase libre du *Staphylococcus aureus* :**

- **Principe :**

La coagulase libre est une exo-enzyme produite uniquement par l'espèce aureus des Staphylococcaceae.

Cette enzyme est capable de coaguler le plasma par transformation de fibrinogène en fibrine.

- **Technique :**

Dans un tube à hémolyse stérile, introduire 0,5 ml de plasma de lapin auquel on ajoute 0,5 ml d'une suspension dense du germe à étudier.

Placer le mélange à 37°C 24heures.

Le mélange est observé d'heure en heure car le coagulum peut-être suivi d'une redissolution du caillot par fibrinolyse.

- **Lecture :**

Coagulation du plasma : réaction positive.

Pas de coagulation du plasma : réaction négative.

➤ **Test d'agglutination : Pastorex- STAPH-PLUS :**

- **Principe :**

Pastorex- STAPH-PLUS est un test rapide d'agglutination sur lame pour la détection simultanée de la coagulase liée (clamping factor), de la protéine A et des polysaccharides capsulaires spécifiques de *staphylococcus aureus*.

- **Technique :**

- Bien homogénéiser le réactif latex et disposer une goutte de réactif latex test dans un des cercles de la carte d'agglutination.
- Déposer une goutte de réactif latex témoin négatif sur un autre cercle.
- Prélever 1 à 3 colonies et les mélanger dans la goutte de latex test durant 10 secondes.
- Procéder de la même façon pour le réactif latex témoin négatif.
- Homogénéiser en faisant un mouvement rotatif de la carte et observer durant 30 secondes en tenant la carte sous un éclairage normal.

- **Lecture :**

Réaction positive : formation d'agrégats uniquement avec le latex, visible à l'œil nu.

Réaction négative : la suspension ne présentera pas d'agrégats et gardera son aspect laiteux avec les deux réactifs.

➤ **Sérogroupage des streptocoques : Pastorex- Strep A, B, C, D, F, G :**

- **Principe :**

C'est un test d'agglutination rapide permettant une détermination du groupe des streptocoques selon la classification de Lancefield.

Ce test comporte des suspensions de particules de latex sensibilisées avec des anticorps anti streptocoques spécifiques de chaque groupe qui réagit avec les antigènes streptococciques permettant ainsi d'identifier les groupes A,B,C,D,F et G.

- **Technique :**

- **Préparation des échantillons :**

Le test s'applique sur des colonies de streptocoques β hémolytiques isolées sur gélose au sang.

▪ **Préparation des extraits :**

- Placer 0.3 ml de solution d'enzyme d'extraction dans un tube à hémolyse pour chaque souche isolée.
- Prélever 5 à 10 colonies d'une culture fraîche de streptocoque et les dissocier dans l'enzyme.
- Incuber 10 à 30 min à 37°C.

▪ **Identification du groupe :**

- Agiter chaque flacon pour remettre en suspension les particules de latex puis disposer 1 goutte de chaque latex dans les cercles de la carte d'agglutination.
- Homogénéiser le contenu de chaque cercle à l'aide d'un bâtonnet.
- Laisser la carte sur un agitateur pendant 1 min.

• **Lecture :**

Réaction positive : formation d'agglutination nette dans un des cercles.

➤ **Test d'esculine :**

C'est un test d'identification des streptocoques D et Entérocoques.

• **Principe :**

C'est la mise en évidence d'une esculine hydrolase : enzyme qui hydrolyse l'esculine en glucose + esculétine.

L'esculétine donne en présence de citrate ferrique une coloration noire d'esculétine ferrique.

• **Technique :**

- Ensemencer par piqure centrale le milieu esculine (gélose en tube) à partir des colonies prélevées) l'aide d'une pipette Pasteur.
- Incuber à 37°C pendant 24 heures.

• **Lecture :**

Réaction positive : noircissement de la gélose.

Réaction négative : pas de coloration noire.

5 - Système API : Analytical Profile Index :

Une galerie API est un ensemble de micro tubes prêts à l'emploi permettant l'identification de [micro-organismes](#) par la réalisation rapide et facile de tests [biochimiques](#) miniaturisés.

• **Principe :**

La galerie API 20 est composée de 20 microtubes surmontés de cupules, contenant des substrats déshydratés et qui permettent de réaliser 20 tests biochimiques du métabolisme respiratoire, glucidique et protéique. Les tests sont inoculés avec une suspension bactérienne qui réhydrate les milieux. Il existe plusieurs types de galeries biochimiques :

Les API 20E pour l'identification des entérobactéries.

Les API 20NE pour l'identification des bacilles à Gram négatif non entérobactéries et non fastidieux (ex. Pseudomonas, Acinetobacter,)

• **Lecture :**

Après incubation de 24 heures, la lecture de la galerie se fait à l'aide d'un tableau de lecture après ajout de réactifs pour certains tests.

Les tests négatifs sont toujours codés 0 alors que le code affecté aux tests positifs varie selon la position du test dans le triplet : 1 pour le premier test, 2 pour le second et 4 pour le troisième. Les trois résultats du triplet sont additionnés, les sommes de chaque triplet lues de gauche à droite forment un nombre à 7 chiffres, qui constitue le profil numérique de la souche étudiée.

La recherche du profil numérique dans le catalogue analytique commercialisé par le fabricant permet d'identifier la bactérie.

L'identification mycologique :

➤ Identification des levures :

L'identification des levures au niveau du laboratoire est basée sur le test de filamentation ou le test de blastèse :

- **Principe :**

En présence de colonies bien individualisées, l'identification précise de l'espèce isolée peut être réalisée par le test de blastèse qui permet la production de tubes germinatifs caractéristiques à 98% des souches de *Candida albicans*, ce qui permet de différencier entre *Candida albicans* et autres *Candida*.

- **Technique :**

On incube les *Candida* durant 3 à 4 heures dans du sérum humain à 37°C.

- **Lecture :**

- Présence de filaments ou tubes germinatifs : *Candida albicans*
- Absence de filaments ou tubes germinatifs : *Candida non albicans*.

II.2.3- Etude de la sensibilité des bactéries aux antibiotiques :

1- Antibiogramme :

Un antibiogramme est la détermination du profil de sensibilité à un panel d'antibiotiques de la ou des bactéries responsables de l'infection pour but :

- D'étudier l'activité bactériostatique des antibiotiques prédictive du succès ou de l'échec thérapeutique.

1.1- Principe :

L'antibiogramme est réalisé par la méthode de diffusion en gélose sur milieu Mueller-Hinton (MH), en utilisant des disques d'antibiotiques chargés avec des concentrations connues. Il permet de classer les bactéries en trois catégories : sensibles, intermédiaire et résistante à l'antibiotique.

1.2- Technique :

L'antibiogramme est réalisé selon les normes de NCCLS (National Comity for Clinical Laboratory Standard) recommandé par l'OMS sur un milieu MHensemencé par la suspension bactérienne à étudier.

Pour valider nos résultats, des souches témoins sont utilisées comme référence.

1.3- Milieu pour antibiogramme :

- Gélose MH coulée en boîtes de Pétri sur une épaisseur de 4 mm. (Cas des bactéries non exigeantes comme les Entérobactéries, Staphylococcus, Pseudomonas)
- Gélose MH additionnée de 5% de sang coulée en boîtes de Pétri sur une épaisseur de 4 mm. (Cas des bactéries exigeantes telles que Streptococcus)
- Les géloses doivent être séchées avant l'emploi.

1.4- Préparation de l'inoculum :

- A partir d'une culture pure de 18 à 24 h sur milieu d'isolement approprié, racler à l'aide d'une anse de platine quelques colonies bien isolées et parfaitement identiques. Dans le cas de Streptococcus utiliser un écouvillon pour prélever plus facilement les colonies bactériennes.
- Bien décharger l'anse ou l'écouvillon dans 5 à 10 ml d'eau physiologique stérile à 0,9%.
- Bien homogénéiser la suspension bactérienne, son opacité doit être équivalente à 0,5 Mc Farland.

1.5- Ensemencement :

- Tremper un écouvillon stérile dans l'inoculum.
- L'essorer en le pressant fermement (et en le tournant) contre la paroi interne du tube, afin de le décharger au maximum.
- Frotter l'écouvillon sur la totalité de la surface gélosée sèche, de haut en bas, en stries serrées.
- Répéter l'opération 2 fois, en tournant la boîte de 60° à chaque fois, sans oublier de faire pivoter l'écouvillon sur lui-même. Finir l'ensemencement en passant l'écouvillon sur la périphérie de la gélose.
- Dans le cas où l'on ensemence plusieurs boîtes de Pétri, il faut recharger l'écouvillon à chaque fois.

1.6- Application des disques d'antibiotiques :

- Il est préférable de ne pas mettre plus de 6 disques d'antibiotique sur une boîte de 90 mm.
- Pour les bactéries exigeantes ne pas mettre plus de 4 disques par boîte de 90 mm.
- Presser chaque disque d'antibiotique à l'aide d'une pince bactériologique stérile et ne pas déplacer les disques après application.

1.7- Incubation :

Pour les bactéries non exigeantes : les boîtes sont incubées dans l'étuve pendant 24 h à 37°C en atmosphère normale

Pour les bactéries exigeantes : les boîtes sont incubées à l'étuve pendant 24-48 heures à 37°C en atmosphère enrichie en CO₂.

1.8- Lecture :

- Mesurer avec précision les diamètres des zones d'inhibition à l'aide d'un pied à coulisse.
- Pour les bactéries testées sur MH simple, les mesures seront prises en procédant par transparence à travers le fond de la boîte de Pétri fermée.
- Pour les bactéries testées sur MH au sang, les mesures de diamètres de zones d'inhibition seront prises, boîte de Pétri ouverte et bien éclairée.
- Comparer les résultats obtenus, aux valeurs critiques figurant dans les tables de lecture correspondantes.

2- Recherche complémentaires

Pour certains antibiotiques ou familles d'antibiotiques, l'antibiogramme standard n'est pas suffisant et des tests complémentaires doivent être pratiqués avant une interprétation définitive.

➤ Recherche de la β -lactamase à spectre élargi (BLSE) chez les entérobactéries, *Pseudomonas aeruginosa* et *Acinetobacter spp* :

a. Définition d'une BLSE :

Les BLSE désignent des enzymes « β -lactamases» produites par les entérobactéries, *Pseudomonas aeruginosa* et *Acinetobacter spp*. Entraînant une diminution de l'activité des céphalosporines de 3^{ème} génération (C3G) (céfotaxime : CTX, céftazidime : CAZ) et des monobactames (aztréonam : ATM), mais n'ayant aucune activité vis-à-vis des céphamycines (céfoxitine : FOX) ni des carbapénèmes (imipénème: IMP).

Cette production d'enzymes peut se traduire sur l'antibiogramme standard par l'apparition d'une image de synergie entre le disque chargé d'acide clavulanique (Amoxicilline + Ac. Clavulanique : AMC et Ticarcilline + Ac. Clavulanique : TCC)

et les disques de céphalosporines de troisième génération, image en bouchon de champagne.

En l'absence de cette image, la production de BLSE sera suspectée devant toute diminution de diamètre autour des céphalosporines de troisième génération ou des monobactames.

La détection des BLSE peut être confirmée par le test du double disque selon la technique suivante :

b- Test du double disque (test de confirmation):

- Pour les Entérobactéries :

Déposer un disque d'AMC et un disque de C3G (CTX) à une distance de 30mm (centre à centre).

- Pour *P.aeruginosa* et *Acinetobacter spp.* :

Déposer un disque de TCC avec un disque de C3G (CAZ) ou monobactame (ATM) à une distance de 25mm.

_ Laisser diffuser les antibiotiques pendant une heure, à température ambiante (sur la paillasse), la boîte sera déposée couvercle vers le haut.

_ Après 1H d'incubation, ôter le disque d'AMC (ou de TCC) et le remplacer par un disque de CTX ou CAZ.

_ Incuber la boîte 18 H à 35°C.

Le test est considéré positif, si le diamètre de la zone d'inhibition du disque de C3G est inférieur ≥ 5 mm à celui observé autour du disque de troisième génération appliqué après pré diffusion du disque l'AMC.

L'interprétation du test consiste à répondre résistant pour toutes les β -lactamines sauf pour l'Imipenème et la Céfoxitine.

➤ Recherche de la β -lactamase (pénicillinase) chez *Staphylococcus spp* par le test de trèfle :

La recherche de la sécrétion de la β -lactamase est obligatoire, Certains Staphylocoques et la plupart des *Staphylococcus aureus* sont résistants à la pénicilline par production d'une pénicillinase. Cette production est mise en évidence grâce à un disque de pénicilline G lors d'un antibiogramme classique.

Etant donné la fréquence de cette résistance, lorsqu'une souche est détectée sensible à la pénicilline G, il faut confirmer le résultat par un test microbiologique de détection de la pénicillinase : seules les souches pour lesquelles le test est négatif seront rendues sensibles.

Ces tests doivent être effectués précocement, en raison des implications thérapeutiques évidentes.

- ✓ **Test de trèfle (test de confirmation) :**

- **Technique**

Ensemencer une souche de *S. aureus* ATCC 25923 sur une gélose MH.

Appliquer un disque de pénicilline G ou ampicilline au centre de la boîte.

Ensemencer en stries radiales (du centre de la boîte à la périphérie) la souche à tester, une souche témoin négatif (*S. aureus* ATCC 25923), une souche témoin positif (*S. aureus* ATCC 43300).

Incuber la boîte 18h à 35°C en atmosphère normale.

La production de β -lactamase (pénicillinase) par la souche à étudier et la souche témoin positif induit la culture de la souche témoin négatif (sensible à la pénicilline) jusqu'au contact du disque d'ampicilline ou de pénicilline.

➤ **Recherche de la résistance de *Staphylococcus sp* à l'oxacilline :**

Un *Staphylococcus aureus* oxacilline résistant est appelé SARM (*Staphylococcus aureus* méticilline résistants, MRSA en anglais).

Pour *S.aureus*, le disque de cefoxitine est comparable à celui de l'oxacilline pour détecter la résistance à l'oxacilline par la mutation des PLP (gène *mecA*). En pratique, pour une meilleure détection de la résistance, les disques d'oxacilline (1 μ g) et de cefoxitine (30 μ g) doivent être testés simultanément au niveau de l'antibiogramme standard de *S. aureus*.

✓ **Le screening test à l'oxacilline :**

• **Technique:**

Sur MH additionnée de 4% de NaCl et 6 % μ g/ml d'oxacilline, l'ensemencement se fait par spot, en appliquant verticalement sur la gélose l'extrémité d'un écouvillon trempé dans la suspension bactérienne.

Les souches de référence (*S. aureus* : ATCC 25923 et ATCC 43300) doivent être testées dans les mêmes conditions pour confirmer le résultat.

• **Lecture :**

L'apparition d'une colonie de la souche testée suffit pour indiquer une résistance à l'oxacilline, impliquant ainsi une résistance à toutes les β -lactamines.

Chapitre III : RESULTATS ET DISCUSSION

III. 1- RESULTATS :

1- Présentation des résultats de l'analyse épidémiologique :

Durant notre étude, nous avons analysé les aspects épidémiologiques de différentes suppurations chez 102 patients. Les paramètres étudiés révèlent les résultats suivants :

Le nombre total des prélèvements effectués est très élevé chez les hommes (62%) par rapport aux femmes (38%).

La répartition des résultats selon le sexe est représentée dans la figure 06.

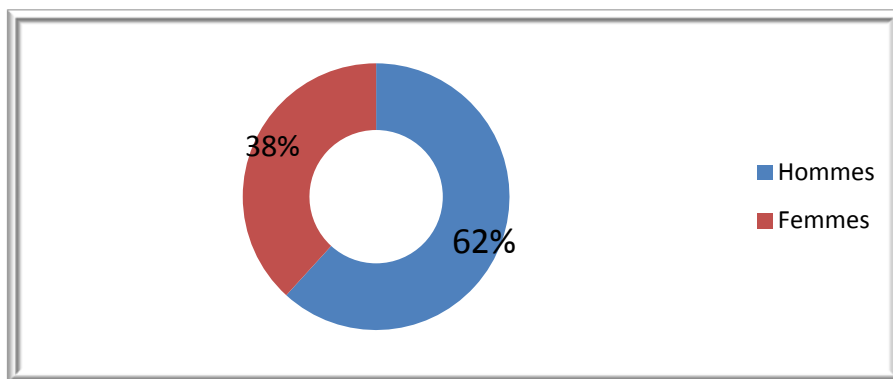


Figure 06 : Répartition des prélèvements selon le sexe

Les patients appartenant à la tranche d'âge entre 15 ans à 30 ans sont les plus touchés par les problèmes de suppurations infectieuses (24 %), suivi de près par la tranche d'âge de 30 ans à 45 ans avec un taux de 23% , la troisième place est occupée par les tranches d'âges de 45 ans à 60 ans et de 60 ans à 75 ans qui arrivent ex aequo avec 20% , loin derrière arrivent les patients à l'âge extrêmes moins de 15 ans et plus de 75 ans avec respectivement 11% et 4% .

La répartition des résultats selon les tranches d'âge est représentée dans la figure 07.

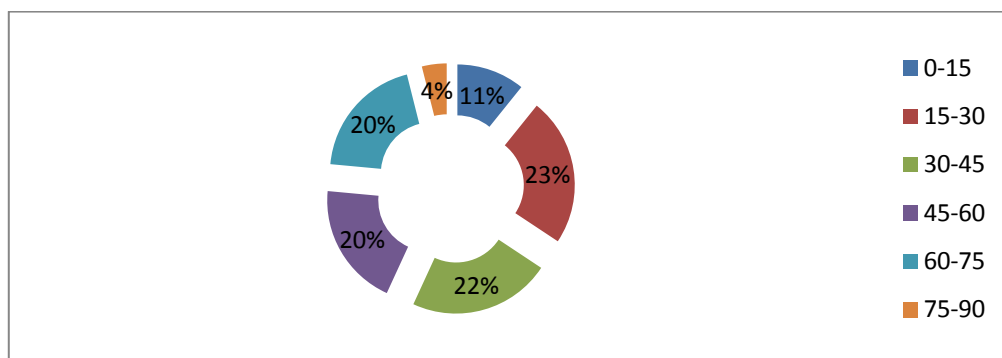


Figure 07 : Répartition des prélèvements selon les tranches d'âge

Sur les 102 patients, 80 étaient hospitalisés soit une fréquence de 78%, les 22% restants étaient des patients non hospitalisés.

La répartition des résultats selon la provenance du patient est représentée dans la figure 08.

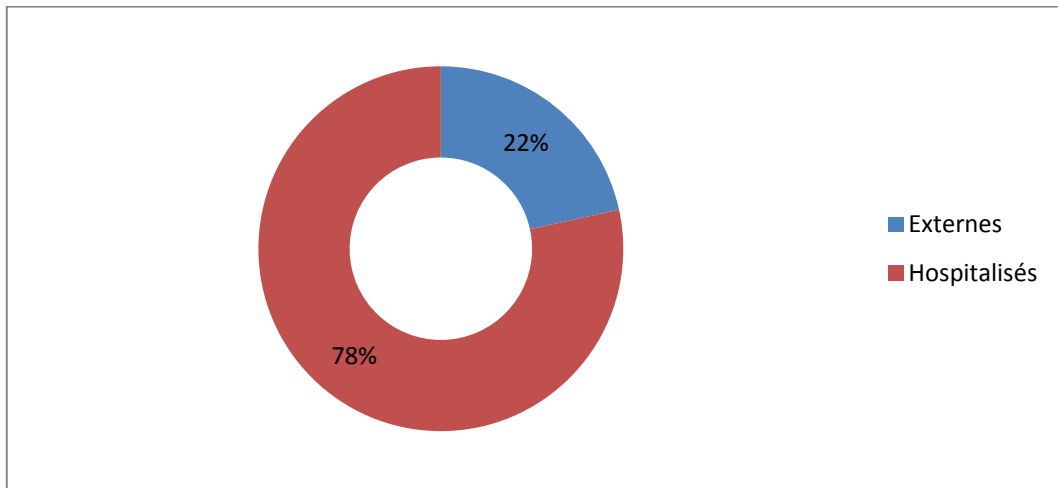


Figure 8 : Répartition des prélèvements de suppurations selon les patients hospitalisés ou non hospitalisés

Parmi les 102 prélèvements de pus, 22 étaient réalisés sur des patients externes dans une salle spécialisée à l'hôpital de Kolea. Les 80 restants sont réalisés dans les différents services de l'hôpital.

La répartition des résultats selon les services d'origine est représentée dans la figure 09.

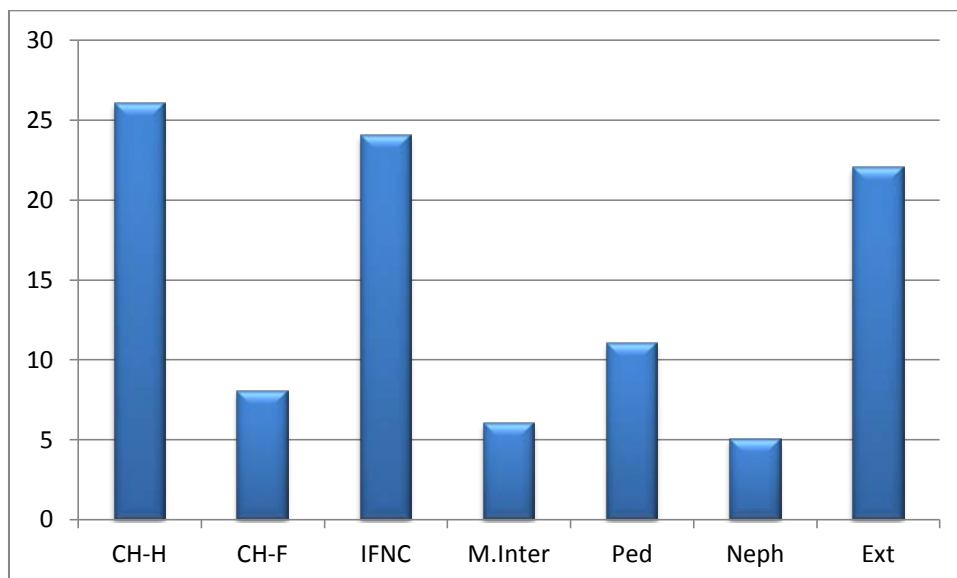


Figure 9 : Répartition des prélèvements selon les services d'origine

CH.H : chirurgie Hommes / **CH.F** : Chirurgie femmes / **INFC** : Maladies infectieuses / **M. Inter** : Médecine interne / **Ped** : Pédiatrie / **Neph** : Néphrologie / **Ext** : Externes

On remarque que sur les 80 patients hospitalisés, le service de chirurgie recueille le plus de prélèvement avec une fréquence de 42 % de prélèvement. La répartition des résultats selon les services est représentée dans figure 10.

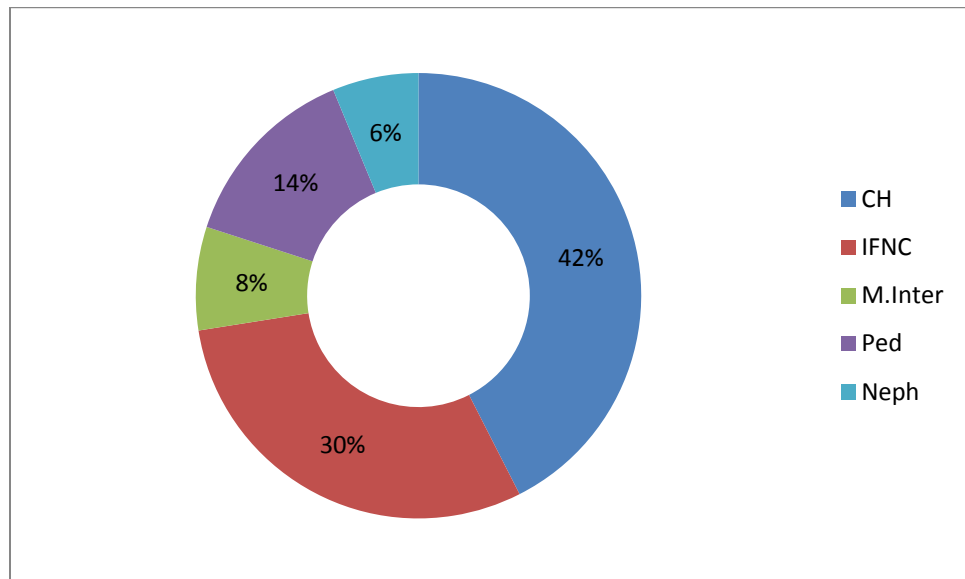


Figure 10 : Répartition des prélèvements selon les services principaux

2- Présentation des prélèvements selon le type de suppurations

Parmi les 102 patients, 47% souffraient d'une suppuration superficielle contre 19% qui présentaient une suppuration secondaire et 18% de suppurations profondes et enfin 16% de pied diabétique.

La répartition des résultats selon les types de suppurations est représentée dans la figure 11.

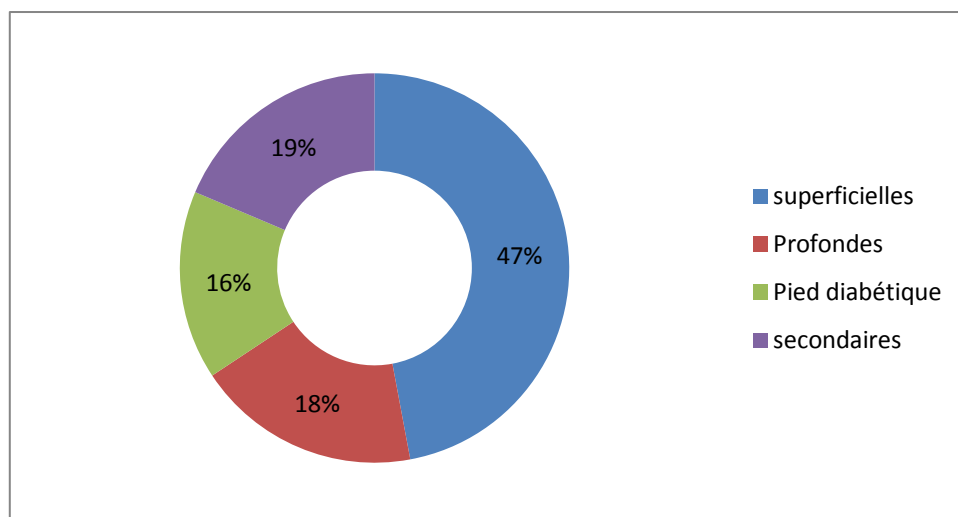


Figure 11 : Répartition des prélèvements selon les types de suppurations

3- Présentation des résultats de l'analyse microbiologique :

a- Résultat selon la positivité des examens microbiologiques

Les résultats obtenus au cours de notre étude, montrent que sur les 102 prélèvements de suppurations d'origine diverses, 85 se sont révélés positifs avec un taux de 83 %, les 17 prélèvements restants se sont révélés négatifs (absences d'infection bactérienne et fongique) avec un taux de 17%

La répartition des résultats selon la positivité des examens est représentée dans la figure 12.

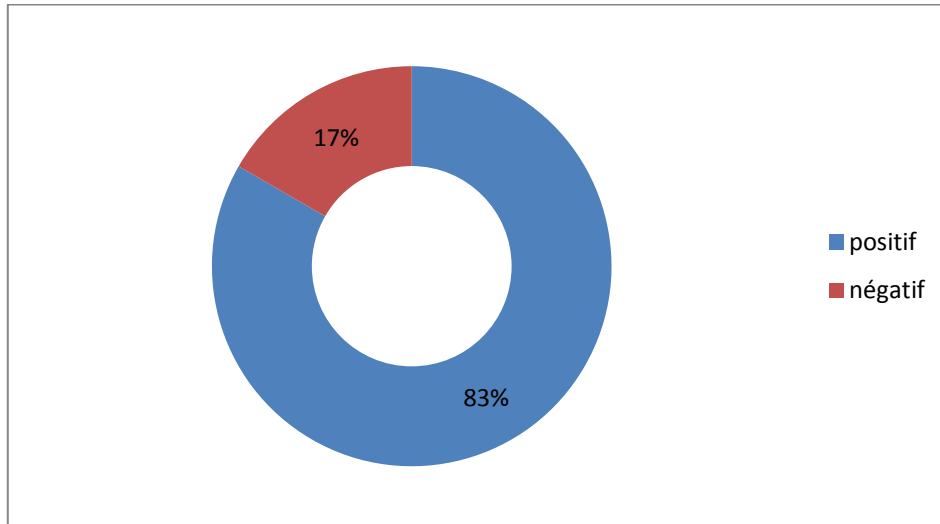


Figure 12 : Répartition des résultats selon la positivité des examens microbiologiques

On remarque que le taux de positivité des infections bactériennes est très élevé (78%) par rapport à celui des infections fongiques (4%).

La répartition des résultats selon le type d'infection est représentée dans figure 13.

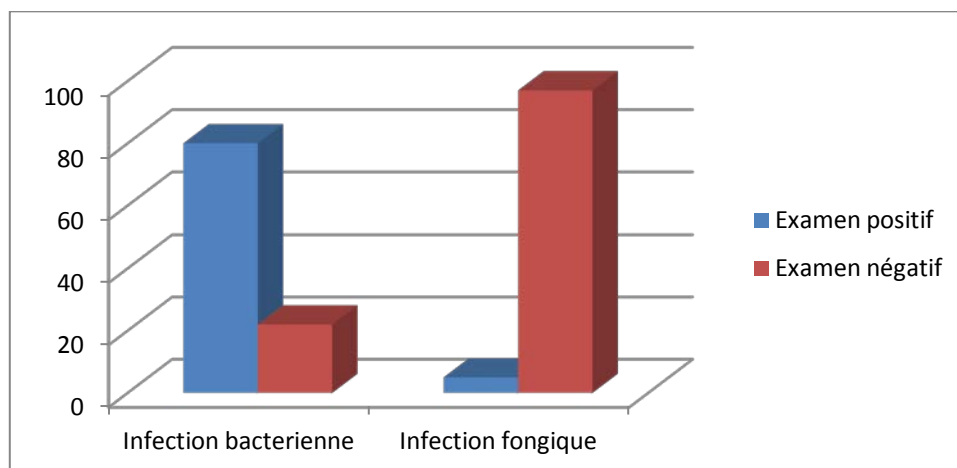


Figure 13 : Répartition des résultats des examens selon le type d'infection

b- Résultats selon les prélèvements monomicrobiens et polymicrobiens :

Nous remarquons que sur les 85 prélèvements positifs, la fréquence des cultures monomicrobiennes (72%) est plus élevée que celle des cultures polymicrobiennes (28%).

La répartition des prélèvements selon les cultures mono et polymicrobiennes est représentée dans la figure 14.

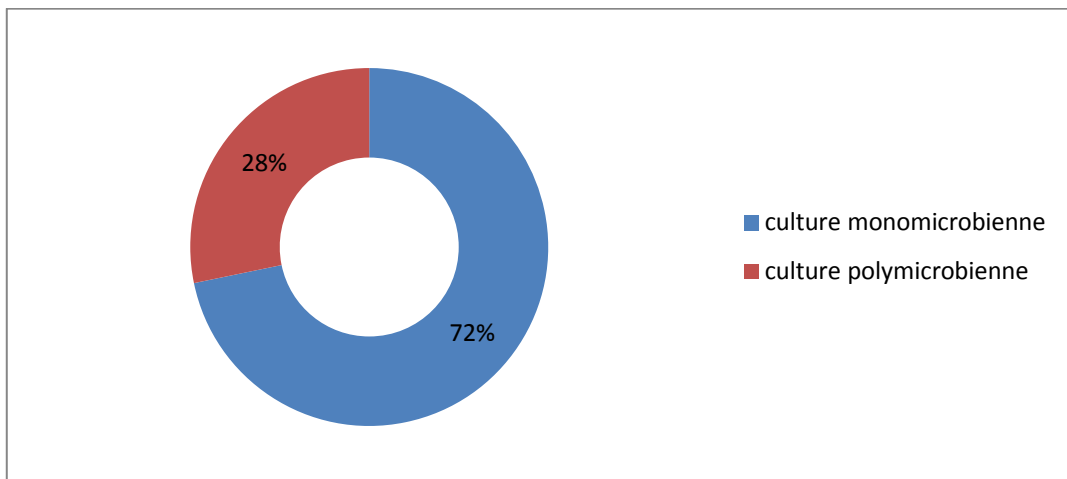


Figure 14 : Répartition des résultats selon la culture monomicrobienne et polymicrobienne

Les résultats issus de 85 prélèvements positifs ont permis d'identifier 113 germes :

Les BGN prédominent avec un taux de 59.23% suivie par CGP et *Candida .spp* avec des pourcentages respectifs de 35.83% et 4.43%.

Il faut noter que les BGN sont représentées principalement par les Entérobactéries avec un pourcentage de 41.54% dont *E. coli* est plus fréquemment isolé avec un taux de 10.61% puis par les *Pseudomonas aeruginosa* à un taux de 14.15%.

Parmi les CGP, on remarque que *Staphylococcus aureus* prend une partie très importante avec un taux 20.35% suivie par *Streptococcus .spp* (11.05%).

La répartition des prélèvements selon les groupes de germes identifiés est représentée la dans figure 15.

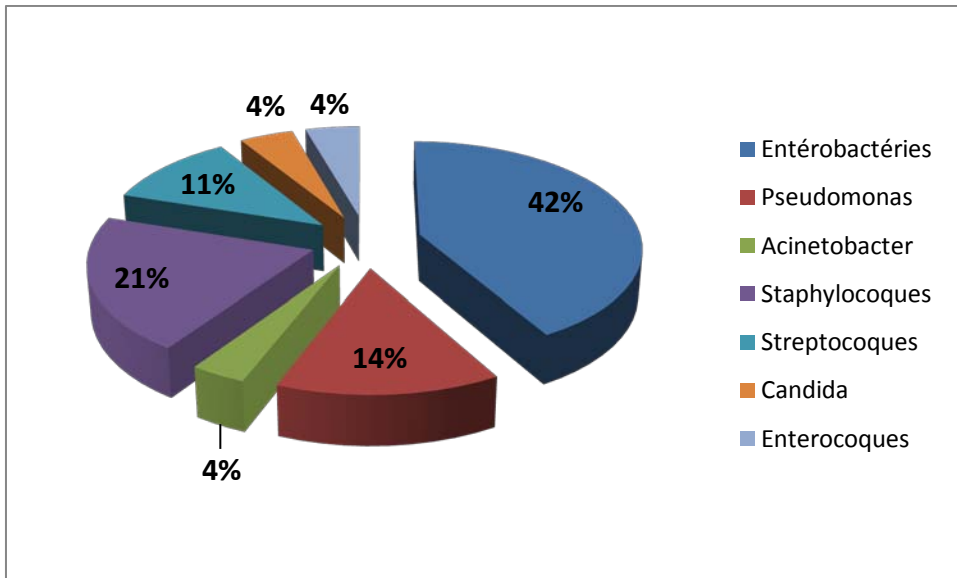


Figure 15 : Répartition des germes identifiés selon les groupes

Sur l'ensemble des genres identifiés, les Staphylocoques sont les plus fréquents avec un taux de 20.35% suivi par *Pseudomonas aeruginosa* avec un taux de 14.15% puis les Streptocoques avec 11.05%. *Escherichia coli* arrive à la quatrième position avec 10.61%. Les autres genres montrent des fréquences moins importantes, en dernière position on retrouve *Citrobacter* avec un taux de 0.89%.

La répartition des résultats selon les genres des germes identifiés est représentée dans la figure 16.

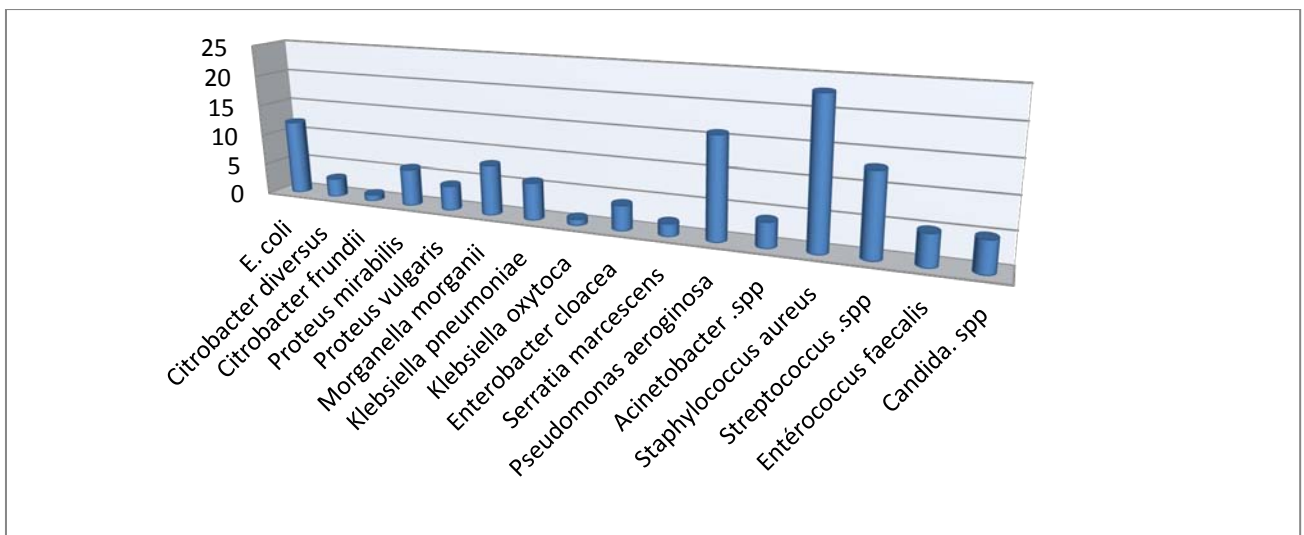


Figure 16 : Répartition des germes identifiés selon les genres

L'ensemble des espèces identifiées est récapitulé dans le tableau ci-dessous.

Tableau VII: Fréquences des microorganismes isolés et identifiés à partir des prélèvements de suppuration

		Espèces isolées	Nombre de souches	%	$\Sigma\%$	
BGN	Entérobactéries	<i>E. coli</i>	12	10.61	41.54%	59.23 %
		<i>Citrobacter diversus</i>	3	2.65		
		<i>Citrobacter freundii</i>	1	0.89		
		<i>Proteus mirabilis</i>	6	5.30		
		<i>Proteus vulgaris</i>	4	3.54		
		<i>Morganella morganii</i>	8	7.07		
		<i>Klebsiella pneumoniae</i>	6	5.30		
		<i>Klebsiella oxytoca</i>	1	0.89		
		<i>Serratia marcescens</i>	2	1.76		
		<i>Enterobacter cloacea</i>	4	3.53		
			<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	16	14.15	
	<i>Acinetobacter .spp</i>	4	3.54			
CGP		<i>Staphylococcus aureus</i>	23	20.35	35.17%	
		<i>Streptococcus .spp</i>	13	11.05		
		<i>Entérocooccus faecalis</i>	5	4.43		
Levures		<i>Candida. spp</i>	5	4.43	4.43%	
		Total	113	100%	100%	

Parmi les 113 germes identifiés les entérobactéries sont les premiers responsables de l'infection lorsqu'il s'agit des infections chroniques, des abcès et des suppurations superficielles avec respectivement 55% ; 56% et 39%, alors que *Pseudomonas aeruginosa* est la première cause d'infection suppurative au niveau des plaies chirurgicales avec un taux de 40%.

La répartition des groupes de germes identifiés selon le type de suppuration est représentée dans la figure 17.

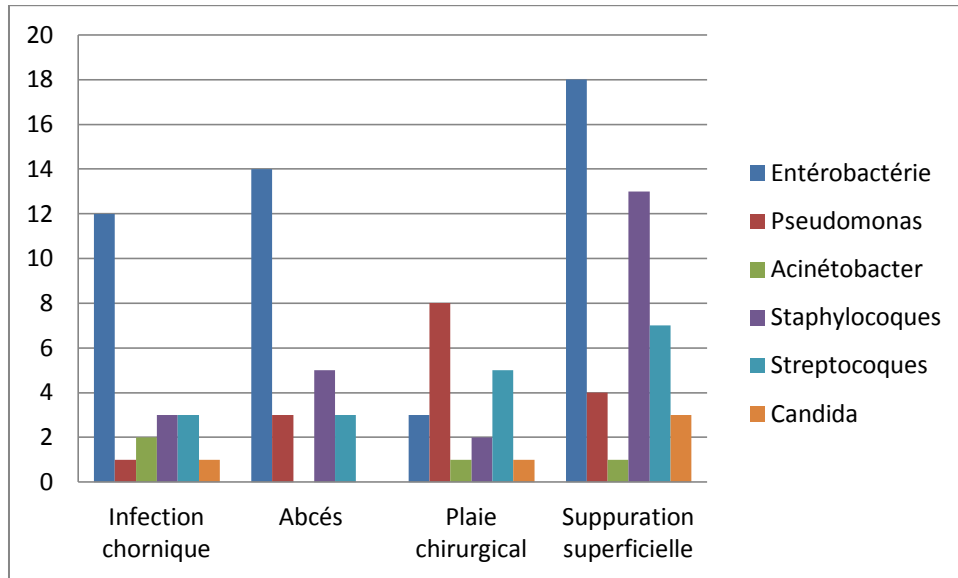


Figure 17 : Répartition des groupes de germes trouvés selon le type de suppuration

Antibiorésistance de souches isolées :

Les résultats de l'antibiogramme ont été exprimés selon les méthodes utilisées pour le classement de la résistance et de la sensibilité des souches (Rahal et al., 2011).

1- Entérobactéries :

Les 47 souches d'entérobactéries isolées présentent :

Une sensibilité totale vis-à-vis de l'imipénème.

Une faible résistance à l'amikacine (2%), céfoxitine (4%), la fosfomycine (13%), la ciprofloxacine (13%), la gentamicine (17%), à l'acide nalidaxique (21%), chloramphénicol (23%) et à la céfotaxime (34%).

Une résistance moyenne vis-à-vis de l'amoxicilline + acide clavulanique (62 %).

Une grande résistance à la triméthoprime + sulfamide (%), la céfazoline (70%) et à l'ampicilline (91%).

Répartition de l'antibiorésistance des Entérobactéries isolées est représentée dans la figure 18.

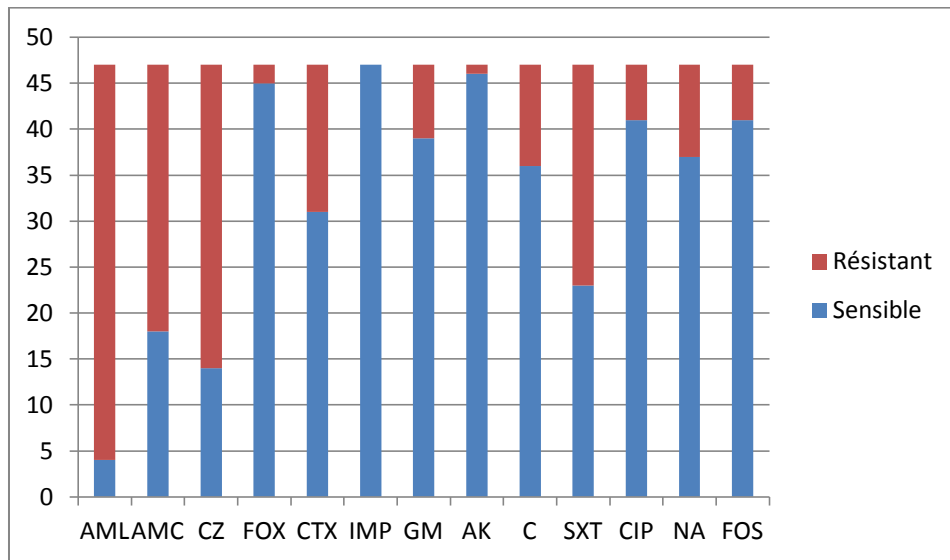


Figure 1 : Répartition de l'antibiorésistance des Entérobactéries isolées

AML : Ampicilline, **AMC** : amoxicilline + acide clavulanique, **CZ** : céfazoline, **FOX** : céfoxitine, **CTX** : céfotaxime, **IMP** : imipenème, **GM** : gentamicine, **AK** : amikacine, **C** : chloramphénicol, **SXT** : triméthoprim + sulfamide, **CIP** : ciprofloxacine, **NA** : l'acide nalidaxique, **FOS** : fosfomycine

- **Répartition des souches des Entérobactéries BLSE+ :**

Parmi les 47 souches d'entérobactéries isolées, 34% produisent des β -lactamase à spectre élargi (BLSE+).

Répartition des souches BLSE+ est représentée dans la figure 19.

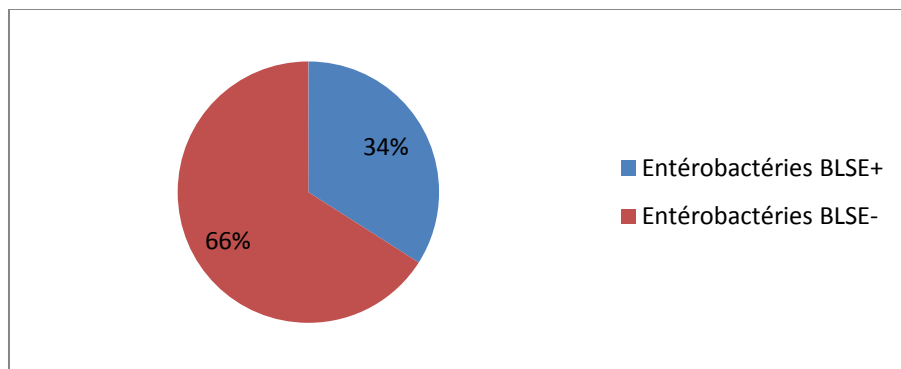


Figure 2 Répartition des souches des Entérobactéries BLSE+

2- *Pseudomonas aeruginosa* :

Les 16 souches de *Pseudomonas aeruginosa* isolées présentent une sensibilité de toutes les souches vis-à-vis de l'amikacine, ainsi qu'une faible résistance envers la tobramicine et la gentamicine (6%), la pipéracilline et l'imipénème avec une résistance (19%), l'aztréoname (25%), la céftazidime (38%) et une résistance moyenne envers la ticarcilline + acide clavulanique (44%), la fosfomycine et la ticarcilline avec un taux de 50%.

Répartition de l'antibiorésistance des *Pseudomonas* isolées est représentée dans la figure 20.

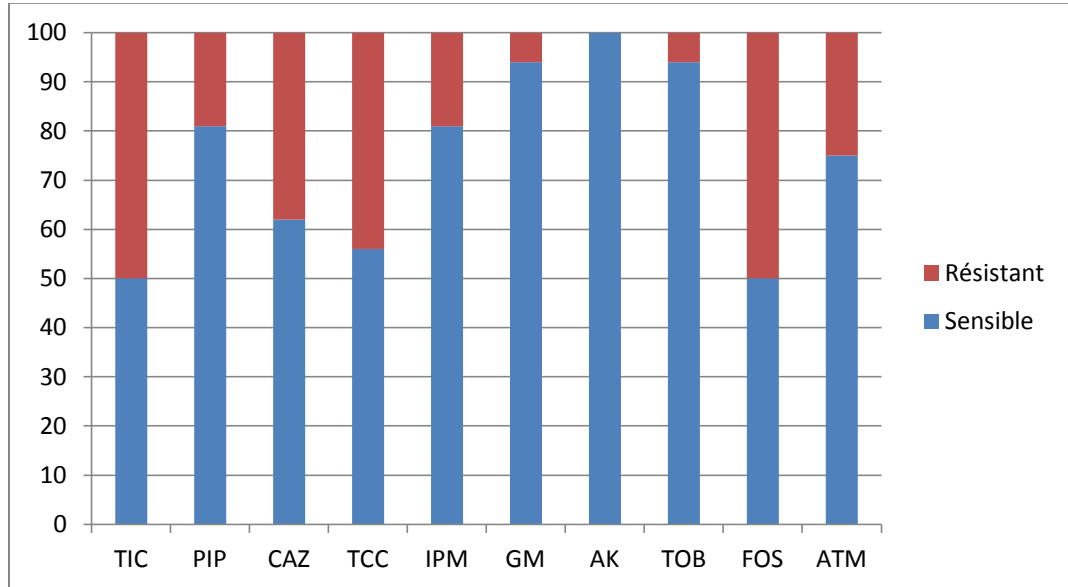


Figure 20 : Répartition de l'antibiorésistance des souches de *Pseudomonas aeruginosa*

TIC : ticarcilline, **PIP** : pipéracilline, **CAZ** : céftazidime, **TCC** : ticarcilline + acide clavulanique, **IMP** : imipénème, **GM** : gentamicine, **AK** : amikacine, **TOB** : tobramicine, **FOS** : fosfomycine, **ATM** : aztréoname.

Les 22 souches de *Staphylococcus aureus* isolées présentent :

Une sensibilité totale vis-à-vis de la vancomycine et à la pristinaamycine et la fosfomycine.

Une résistance faible vis-à-vis de la clindamycine (4%), la rifampicine (4%), la kanamycine (4%), triméthoprime + sulfamide (4%), l'érythromycine (8%), l'amikacine (13%), la gentamicine (17%), la céfoxitine (18%), la doxycycline (18%).

Une résistance moyenne vis-à-vis de l'oxacilline (35%) et l'acide fusidique (47%).

Une résistance quasi totale contre la pénicilline G (94%).

Répartition de l'antibiorésistance des *Staphylocoques* isolées est représentée dans la figure 21.

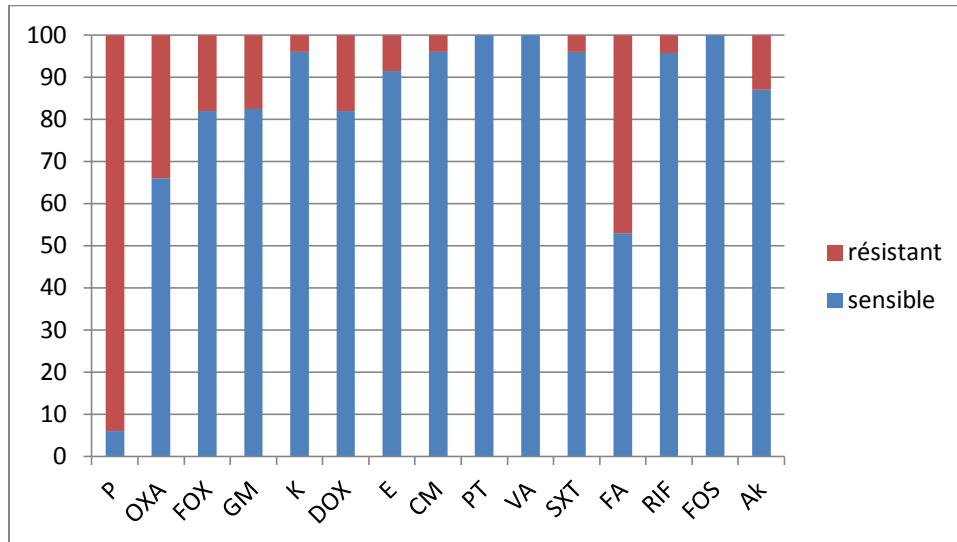


Figure 21 : Répartition de l'antibiorésistance des souches de *Staphylococcus aureus*

P : Pénicilline, **OXA** : oxacilline, **FOX** : céfoxitine, **GM** : gentamicine, **K** : kanamycine, **DOX** : doxycycline, **E** : erythromycine, **CM** : clindamycine, **PT** : pristinamycine, **Va** : vancomycine, **SXT** : triméthoprim + sulfamide, **FA** : acide fusidique, **RIF** : rifampicine, **FOS** : fosfomycine, **AK** : amikacine.

- **Répartition des souches de *Staphylococcus aureus* selon la résistance à la méticilline :**

les résultats de l'antibiogramme et du screening test des 23 souches de *Staphylococcus aureus* isolées montrent que 33.76% des souches sont résistantes à la méticilline (Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* : MRSA), les 66.24% restantes sont sensibles à cette molécule (Methicillin-sensible *Staphylococcus aureus* : MSSA).

Répartition des souches MRSA est représentée dans la figure 22.

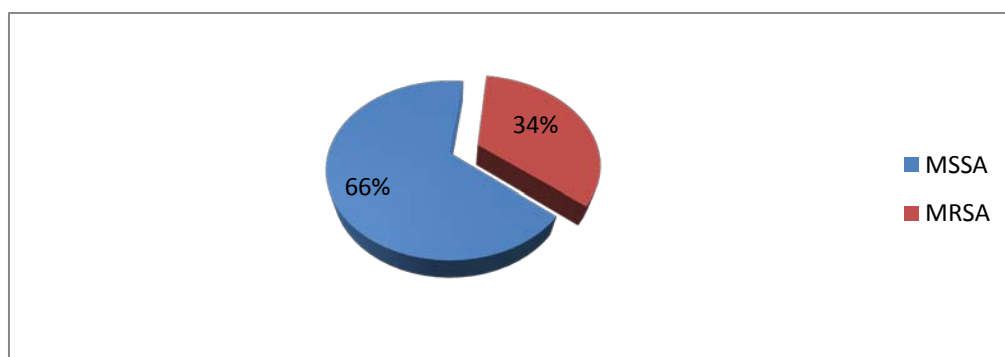


Figure 22 : répartition des souches de *Staphylococcus aureus* selon la résistance à la méticilline

4- *Streptococcus sp* :

Les 13 souches de *streptococcus sp* isolées affichent :

Une sensibilité totale vis-à-vis de l'ampicilline et la vancomycine.

Une faible résistance vis-à-vis de la gentamicine (7.69%), la rifampicine (7.69%), la lévofloxacine (7.69%), le chloramphénicol (15.38%) et la gentamicine (15.38%), la tétracycline (23.07%), la pristinamycine (23.07%), l'érythromycine (23.07%).

Une résistance moyenne vis-à-vis de la pénicilline (38,46%).

Répartition de l'antibiorésistance des Streptocoques isolées est représentée dans la figure 23.

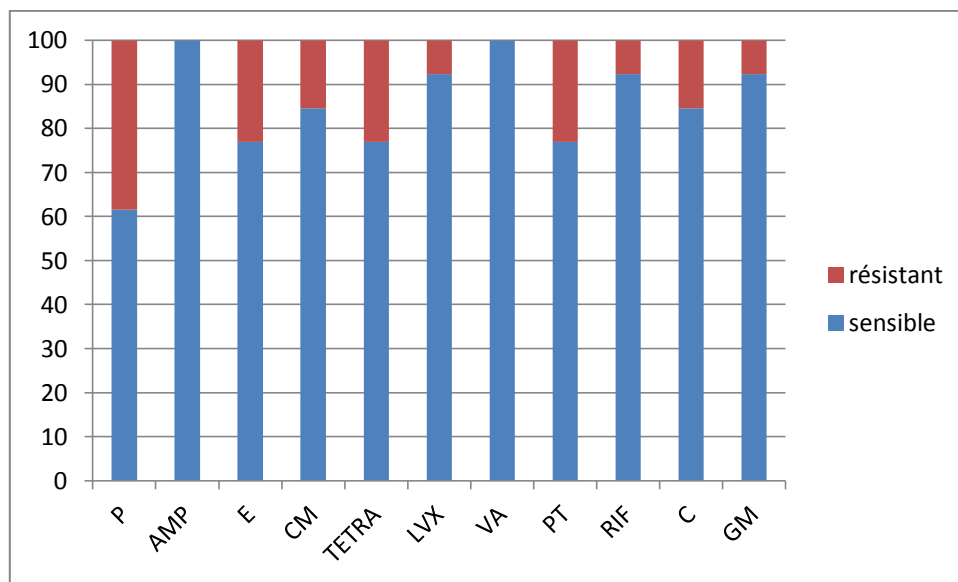


Figure 23 : Répartition de l'antibiorésistance des souches de *Streptococcus sp*

P : Pénicilline, **AMP** : Ampicilline, **E** : érythromycine, **CM** : clindamycine, **TETRA** : tétracycline, **LVX** : lévofloxacine, **Va** : vancomycine, **PT** : pristinamycine, **RIF** : rifampicine, **C** : chloramphénicol, **GM** : gentamicine.

Concernant *Acinetobacter*, et les *Entérocoques*, la résistance n'a pas été réalisée vu le nombre faible des souches isolés.

Comparaison des prélèvements issus du même malade :

Au cours de notre étude, 9 patients ont bénéficiés de deux prélèvements dans un intervalle de temps différent, la comparaison entre le premier et le deuxième prélèvement de chaque malade montre que 53.85% ne présente aucun signe d'infection (absence de culture), 23.07% ont gardé le même profil (persistance des même germes), 15.38% ont présenté le même profile et une autre surinfection est établie en plus, 7.69% présente un profil différent.

Une comparaison entre deux profils microbiologiques issus du même malade est schématisée dans la figure 24.

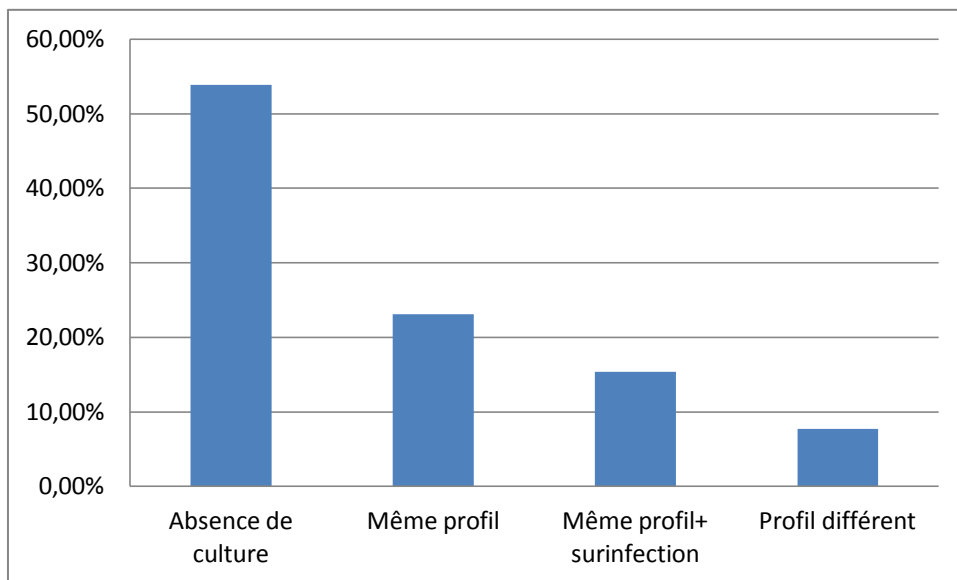


Figure 24 : Comparaison entre deux profils microbiologiques pour les mêmes malades

III. 2- Discussion :

Les résultats obtenus au cours de notre étude montrent que sur les 102 prélèvements analysés 85 cas se sont révélés positifs, soit un taux de 83%, les 17 prélèvements restants étaient négatifs avec un taux de 17%. Ceci nous montre la fréquence assez élevée des infections suppuratives quelle que soit leur type.

Plusieurs facteurs favorisent ces types d'infections :

- Absence d'hygiène cutanée.
- Macération (obésité).
- Corticothérapie locale.
- Toute altération de la peau rompant la continuité et l'efficacité de la barrière cutanée est une porte d'entrée pour les germes.

La répartition des 102 prélèvements selon le type de suppuration a montré que 47% des patients souffraient d'une suppuration superficielle, les abcès, les suppurations secondaires et les lésions du pied diabétique se partagent la deuxième place avec respectivement 19% ,18% et 16%. Cela est probablement dû au fait que :

- La peau est un organe étendu et complexe, non stérile, colonisée par une flore résidente non pathogène, soumise, plus que tout autre à de nombreuses agressions. Selon **Stevens et al., (2004)**, Il n'est donc pas surprenant que nous rencontrions au niveau de la peau de nombreuses affections .
- Les suppurations secondaires (plaies chirurgicales) sont très présentes dans le milieu hospitalier, la colonisation d'une plaie fraîche est rapide ; elle est un site privilégié pour l'adhérence des bactéries qui ont trois origines possibles :
 - Aéroportée : elles se déposent sur les supports (poussières de textile, squames de peau) ;
 - Autologue : toute intervention comportant l'ouverture d'une cavité naturelle entraîne une adhérence des bactéries, issues de la profondeur, aux berges de la plaie ;
 - D'un site à distance par voie hématogène, le risque de colonisation est multiplié par trois si l'opéré est porteur d'un foyer infectieux à distance (**Magalon et al., 2003**).
- Avec un taux de 16% l'infection du pied diabétique représente une des complications les plus fréquentes du diabète et celle qui requiert le plus de journées d'hospitalisation. Selon **Stahl et al.,(2007)**, l'infection du pied diabétique est fréquente en raison d'un déficit du système immunitaire lié à l'hyperglycémie. Un milieu riche en glucose favorise également une prolifération microbienne, l'infection trouve au niveau du pied un terrain favorable à une extension rapide en raison de troubles circulatoires et la neuropathie (**Blackwell et al.,1996**).

Parmi les 102 prélèvements recueillis, 19 étaient des patients atteints d'une maladie chronique (diabète, spinabifida...). Selon **Senneville (2008)**, les prélèvements des plaies chroniques sont en effet quasiment toujours positifs, or dans notre étude 5 prélèvements demeurent indéterminés en raison de la culture négative ou présence de bactéries non pathogènes avec un pourcentage de 26.31%, ceci peut être expliqué par :

- Des conditions de prélèvements incorrectes ou inadéquates : le revêtement cutanéomuqueux et les cavités naturelles du corps humain sont habités par une flore bactérienne normale qui joue un rôle important dans l'équilibre physiologique (**Bouhbal, 2006**).
- Le patient est sous antibiothérapie probabiliste. La prescription des traitements probabilistes fait augmenter dans plusieurs cas des cultures négatives, d'après **Grimaldi (2005)**, si une antibiothérapie est installée en urgence avant le résultat de prélèvement elle est dite probabiliste, c'est-à-dire susceptible de couvrir tous les germes probablement en cause, et donc à large spectre.

L'étude microbiologique des cultures positives a mis en évidence la prédominance des bacilles à Gram négatifs (BGN) avec un taux de 59.23%, les Entérobactéries occupent la première position avec un taux de 41.54%, suivi par les Staphylocoques avec 20.35%, les Pseudomonas avec 14.15% et les streptocoques 11.14%. Le taux le plus faible est celui des levures (*Candida*) (4.43%).

Selon **Eberlin (1997)**, les infections à entérobactéries correspondent à la plus grande partie des infections bactériennes.

Les Entérobactéries constituent plus de 80 % des germes isolés au laboratoire (**Mirabaud, 1996**).

Les Pseudomonas avaient une fréquence de 14.15%, représentés par *Pseudomonas aeruginosa* qui est une bactérie ubiquitaire de l'environnement et doit être considérée la plupart du temps comme non pathogène. Cependant elle colonise facilement les patients hospitalisés, et peut être à l'origine d'infections graves sur des terrains fragilisés.

Dans notre étude nous avons remarqué que *Pseudomonas aeruginosa* est la première cause de surinfection des plaies chirurgicales (40%), d'après **Chaplain (1997)**, *Pseudomonas aeruginosa* est un germe saprophyte de l'environnement, fréquemment rencontré dans les infections nosocomiales.

Dans le groupe des Cocci à Gram positif (CGP), les Staphylocoques occupent la première place avec une fréquence de 20.35%, selon **Lushiku (2006)**, les

Staphylocoques sont parmi les germes les plus fréquemment observés dans les infections suppuratives.

Il existe des individus qui sont porteurs de Staphylocoques pendant de longues périodes et d'autres qui sont des porteurs intermittents. Pour des raisons inconnues, certains groupes de patients comme les diabétiques ont un taux de portage supérieurs à celui de la population générale (**Schaechter et al., 1999**).

D'après **Blackwella et al., (1996)**, en dehors des staphylocoques dorés, on observe souvent la présence d'espèces bactériennes réputées non virulentes mais qui, dans un contexte d'infection plurimicrobienne, peuvent devenir pathogènes, probablement par synergie de virulence.

Les maladies chroniques et l'immunodépression sont également responsables de la pathogénicité de germes dits non virulents comme les staphylocoques blancs (**Blackwella et al., 1996**).

Dans notre étude les Staphylocoques à coagulase négative n'ont pas été prisent en considération malgré qu'ils ont été isolés à plusieurs reprises, car ils sont considérés comme des contaminants des prélèvements de pus.

Selon **Hartemann-Heurtier et al., (2000)**, l'incrimination d'un staphylocoque à coagulase négative est discutable.

Parmi les 113 germes identifiés *Staphylococcus aureus* était l'espèce la plus dominante avec un taux de 20,35%, d'après **Lecornet (2007)**, 29 à 76% des prélèvements bactériologiques sont positifs à *S.aureus*.

Au sein du même groupe les Streptocoques occupent la seconde place avec un taux de 11.14%, ce sont les germes les plus souvent isolés en clinique humaine après les Entérobactéries et les Staphylocoques (**Kernbaum, 1990**).

D'après **Toumi et al., (2011)**, les streptocoques, notamment du groupe B sont de plus en plus isolés au cours des infections suppuratives.

Sur les 85 prélèvements positifs, 28% se sont révélés être polymicrobiens.

D'après **Ha Van (2008)**, ceci est favorisé éventuellement par le déficit de mécanisme cellulaire des défenses qui peut altérer les fonctions des leucocytes polynucléaires, cette immunodépression expose les sujets à des infections bactériennes graves.

Selon **Bernatchez (2009)**, les infections sont polymicrobiennes lorsqu'elles sont profondes et/ou chroniques et/ou déjà traitées aux antibiotiques.

L'étude de l'antibiorésistance de différentes souches bactériennes montre que ces bactéries ont développé des mécanismes de résistance.

Les Entérobactéries ont montré une résistance élevée aux β -lactamines testés sauf à l'imipénème et la céfoxitine. En effet 34% des souches isolées étaient productrices des β -lactamases à spectre étendu (BLSE). Selon **Rahal et al., (2011)**, une bactérie dite BLSE+ est résistante à toutes les β -lactamines sauf à l'imipénème et la céfoxitine.

D'après **Ha Van (2008)**, les entérobactéries BLSE+ par rapport à d'autres bactéries résistantes sont beaucoup plus rarement rencontrées. Le taux élevé de BLSE qu'on a trouvé peut être expliqué par le fait qu'un nombre très important des patients concernés étaient hospitalisés ce qui peut faciliter la dissémination de souches bactériennes résistantes.

La pression de sélection exercée par les antibiotiques utilisés dans le cadre d'une antibiothérapie empirique joue aussi un rôle important dans le développement de résistance et la propagation de BLSE.

Selon **Kayser et al., (2008)**, la sélection joue un rôle important dans l'apparition et la désamination de souches résistantes. Plus on utilise des antibiotiques, plus on trouve des souches ayant des résistances acquises. C'est pour cette raison que les souches résistantes se rencontrent essentiellement à l'hôpital. Chaque hôpital présente une flore hospitalière avec un phénotype de résistance spécifique, déterminé par les pratiques de prescription.

D'après **Canu et François (2001)**, le nombre de souches résistantes isolées en milieu hospitalier est plus élevé et associé à un risque d'infection nosocomiale, c'est-à-dire un risque de contamination par des souches résistantes de patients déjà fragilisés par hospitalisation, risque limité par le respect de règle d'hygiène stricte.

Dans le cas de *Pseudomonas aeruginosa* on a trouvé une sensibilité quasi totale à la famille d'aminoside et à la famille de β -lactamines. Par contre elle est moyennement résistante aux Ticarcilline.

D'après (**Figarella et al., 2004**), *Pseudomonas aeruginosa* est sensible à un nombre restreint d'antibiotiques. Ceci explique sans doute qu'il soit développé en milieu hospitalier.

Selon **Nauciel (2005)**, *P.aeruginosa* possède une résistance naturelle à de nombreux β -lactamines. Les souches sauvages sont sensibles aux uréidopénicilline, à certaines céphalosporines de 3^{ème} génération, à l'imipénème, elles sont aussi

sensibles aux aminosides et aux fluoroquinolones. Mais l'acquisition de résistance à l'égard de tous ces antibiotiques est fréquemment observée.

Les 23 souches de *Staphylococcus aureus* identifiées présentes des résistances vis-à-vis de la pénicilline G et l'acide fusidique. L'antibiogramme effectué à montré que 34% des souches étaient résistantes à la méticilline (SARM).

Chez certains malades, il existe un risque réel d'isoler des bactéries multi résistantes (BMR), il s'agit souvent de malades ayant séjourné à l'hôpital avec un risque de transmission croisée. D'autres facteurs de risque tels qu'une infection chronique du pied diabétique et une antibiothérapie antérieure.

Selon **Toumi et al., (2011)**, parmi les BMR *S.aureus* résistant à la méticilline vient en premier lieu, l'isolement des SARM constitue un problème de première importance même si c'est un germe colonisant et non responsable de l'infection. D'après **Ha Van (2008)**, les SARM sont de plus en plus fréquemment retrouvés dans les plaies du pied diabétiques. Selon **Monnier (2010)**, 20 à 30% des patients avec une plaie chronique du pied sont porteurs de SARM.

D'autres bactéries multirésistantes commencent à poser des problèmes thérapeutiques, il s'agit de *S.aureus* de sensibilité diminuée aux glycopeptides, des entérocoques résistants à la vancomycine, des entérobactéries productrices de bêta-lactamase à spectre étendu (BLSE) ainsi que de *Pseudomonas aeruginosa* multi-résistant (**Toumi et al., 2011**).

Le développement de résistances chez les bactéries, la dispersion horizontale des déterminants de résistance entre les bactéries et la dissémination de souches bactériennes résistantes ne peuvent être stoppés, mais seulement retardés, par la réduction de la pression de sélection.

Conclusion

Au cours de notre étude réalisée au niveau du laboratoire central de l'hôpital de Kolea, nous avons évalué la fréquence des suppurations d'origine bactérienne dans la région de kolea qui était de 83% sur un total de 102 prélèvements, avec une prédominance masculine.

113 souches ont été isolées et identifiées ; 41,54% étaient des Entérobactéries, 20,35% étaient des Staphylocoques, 14,15% étaient des *Pseudomonas auruginosa*, sont suivie par les Streptocoques avec 11,05% et les Candida avec le taux le plus faible de 4,43%.

Concernant la résistance des souches d'entérobactéries aux antibiotiques, nous avons obtenu une sensibilité totale vis-à-vis d'IMP, une faible résistance vis-à-vis d'AK, FOX, FOS, GM, NA, C, CTX. Un pourcentage de résistance moyen de 62% à AMC et une forte résistance aux SXT, CZ, AML.

34% des Entérobactéries étaient productrice d'une β -lactamase à spectre élargi (BLSE+).

Pour ce qui est de la résistance des Staphylocoques une sensibilité totale à la Vancomycine a été enregistrée contre une résistance quasi-totale des souches de Staphylocoques à la Pénicilline G. 33% des *Staphylococcus aureus* isolées étaient résistantes à la méticilline (MRSA+).

La lutte efficace contre l'émergence et la dissémination des résistances appelle l'ensemble du personnel médicale et paramédical à :

- Une prescription rationnelle d'antibiotiques assurant un succès et évitant la sélection de mutants résistants.
- L'équipe de l'hygiène hospitalière de prendre les mesures nécessaires pour diminuer la dissémination des souches résistantes.
- Orienter les travaux de recherches vers une recherche des souches productrices des nouvelles molécules d'ATB actives contre les BMR.
- A approfondir l'étude sur l'aspect génétique des souches isolées.

Recommandations

Suite à notre étude réalisée concernant « l'examen microbiologique des suppurations », on a fait un stage qui nous a permis de voir en pratique la réalisation des différentes étapes d'un prélèvement de pus et on a réalisé l'intérêt et l'importance de chaque étape :

L'acheminement rapide, les données clinique de la feuille de renseignement, l'identification de l'agent incriminé dans l'infection, et donner un résultat rapide avec un antibiogramme pour que le clinicien rectifie ou prescrit un traitement antibiotique.

Voila quelques points visant à améliorer les conditions pour poser le diagnostic bactériologique des infections suppuratives :

- ✓ Les prélèvements suppuratifs doivent obéir à des règlements stricts d'asepsie.
- ✓ Coopération entre clinicien et bactériologiste
- ✓ Fiche de renseignements cliniques : doit accompagner obligatoirement tout prélèvement afin de donné un diagnostic précis et précoce, un traitement adapté, réduire la durée de l'hospitalisation, et éviter les complications (amputation, les infections nosocomiales...etc.).
- ✓ Les infirmiers doivent veiller sur les prélèvements suppuratifs à savoir leur acheminement rapide, l'utilisation si nécessaire d'un milieu de transport, vérification de l'étiquetage (nom) et de la feuille de renseignement.
- ✓ Le laboratoire doit disposer des moyens et des réactifs afin de rendre des résultats précis.
- ✓ Les prélèvements doivent être traités sans délai dès leurs réceptions.

Références bibliographiques

- Avril J-L., Dabernat H., Denis F et Monteil H . 2000 :** Bactériologie clinique .3^{ème}Edition Ellipses .Paris.602p.
- Avril J-P., Dabernat H., Denis H et Monciel H . 1992 :** Bactériologie clinique. 2^{ème} Edition Ellipses .Paris .149-151 p.
- Blackwell A., De Beer A et Eurlly F. 1996 :** Pathologie du pied. Edition Masson. Paris. P : 120.
- Bosgiraud C. 2003 :** Microbiologie générale et santé. Edition ESKA. Paris. P : 513.
- Bosgiraud C. 2003 :** Microbiologie générale et santé. Edition ESKA. Paris. P : 513.
- Boulahbal F. 2006 :** Microbiologie. Office des publications universitaires. Alger. P24-87. 127-128.
- Boulahbal F.2006 :** Microbiologie. Office des publications universitaires. Alger. P : 24-87,127-128.
- Canu A et François P.2001 :** Le préparateur en pharmacie - Microbiologie et immunologie. 4^{ème} édition Tec & Doc. Paris. P : 198.
- Carbonelle B., Denis F., Marmonier A., Pinon Get Vargues R. 1997 :** Bactériologie médicale Techniques usuelles. Simep. Paris. P : 203.
- Cavallo J-D., Fabre R., Jehl F., Rapp C et Garrabe E. 2004 :** Bétalactamines, Beta-lactam antibiotics. EMC-Maladies Infectieuses. Vol 1. Issue : 03.
- Chaplain. 1997 :** Conduite à tenir devant une bactérie multi résistante. MAPAR. Saint-Denis. P : 564-571.
- Christol D. 1978 :** Savoir interpréter les analyses bactériologiques et les épreuves de sensibilité aux antibiotiques. Edition G.I.A. P : 60-63.
- Clave D., Grosjean J., Archaumbaud M et Pasquier C. 2009 :** Bactériologie et virologie pratique. Edition De beock. Bruxelles. P: 55-170.
- David D., Chiva S., Jells S., Manas et Ladrigo. 2011:** Diagnostic accuracy in patients admitted to hospitals with cellulitis. Dermatology online Jornal Volume 17 n°3.
- Davido B. 2010 :** Etude de la prise en charge ambulatoire des infections cutanées communautaires à Staphylocoque doré. Paris. P : 9-11.
- Delarras C. 2007 :** Microbiologie pratique pour le laboratoire d'analyses ou contrôle sanitaire. Edition Lavoisier. Paris. P : 476.

- Denis F., Cecile M., Martin C., Bengen E et Quentin R. 2007 :** Bactériologie médicale Techniques usuelles. Edition Masson. Paris. P : 165-170.
- Didier R. 1998 :** Dictionnaire de maladies infectieuses. Edition Masson. Paris. P : 1162.
- Eberlin T. 1997 :** Les infections microbiennes. Edition Nathan. Tome 1. Paris. P : 129.
- Eyquem A., Alouf G et Montagnier L : 2000.** Traité de microbiologie clinique. Edition PICCIN. Paris. P : 79.
- Figarella J., Leyral G et Terret M : 2004.** Microbiologie générale et appliquée. Edition Delagrave. Paris. P : 118.
- Flandrois J-P et Chomar M : 1998.** Bactériologie médicale pratique. Edition Medsi-McGraw-Hill. P : 68-70.
- Flandrois J-P., Courcol R., Lemeland J-F., Ramuz M., Sirot J et Soussy C-J : 1997.** Bactériologie médicale. Collection Azay. P : 208.
- Gayraud M et Lortholary O. 2005 :** Nouveau cahier de l'infirmière – Maladies infectieuses. Edition Masson. Paris. P : 68.
- Grimaldi A. 2005 :** Guide pratique du diabète. 5^{ème} édition Masson. Paris. P : 199-201.
- Grosjean J., Clave D., Archambaud M et Pasquier C. 2009 :** Bactériologie et virologie pratique. Edition De Boeck. Bruxelles. P : 55-170.
- Ha Van G. 2008 :** Le pied diabétique. Edition Masson. Paris. P : 1-8, 128-129.
- Ha Van G. 2008 :** Conduite à tenir face à une plaie du pied diabétique. La revue de médecine interne n°29. P : 238-242.
- Hartemann-Heurtier A., Marty L., Ha Van G et Grimaldi A. 2000 :** Place de l'antibiothérapie dans le traitement du pied diabétique. Elsevier Masson SAS. Vol 26, N°3. P : 219.
- Herisson C et Simmon L. 1993 :** Le pied diabétique. Edition Masson. Paris. P : 112.
- Hocquet-Berg S et Py B. 2006 :** La responsabilité du médecin. Heures de France. Paris. P : 42.
- Joly B et Reynaud A. 2003 :** Entérobactéries – Systématique et méthodes de diagnostic. Edition Lavoisier. Paris. P : 09, 356-369.
- Kayser F., Erik C et Bottger. 2008 :** Manuel de poche de microbiologie médicale. Médecine Sciences Publications. Paris. P: 764.
- Kenneth J-R et George Ray C. 2004:** Sherris Medical Microbiology. Fourth edition Medical Publishing Division. USA. P: 819.
- Kernabaum S. 1990 :** Elément de pathologie infectieuse. 5^{ème} édition : SIMEP. Paris. P :606.

Le Minor L et Viron M. 1989 : Bactériologie médicale. 2^{ème} édition Flammarion. Paris. P : 1107.

Lecornet E. 2007 : Prévenir la transmission du *Staphylococcus aureus* résistant à la pénicilline lors de la prise en charge du pied diabétique. Thèse de doctorat en médecine. Paris. P : 1-95.

Lushiku E-B. 2006 : Le pied diabétique. Rv Med. Bruxelles. S315-323.

Magalon G et Vanwijck. 2003 : Guide des Plaies Du pasement à la chirurgie. Edition John Libbey Eurotext. France. P : 67.

Male D.2005 : Immunologie. Edition De Boeck & Larcier. Bruxelles. P : 79.

Monnier L. 2010 : Diabétologie. Edition Masson. Paris. P : 272-274.

Moulinier C. 2003 : Parasitologie et mycologie médicales. Edition EMinter. P : 796.

Nauciel et Vilide J-L. 2005 : Bactériologie médicale- connaissances et pratique. Edition Masson. Paris. P : 257.

Nauciel C. 2000 : Bactériologie médicale. Edition Masson. Paris. P : 288.

Page., Curtis., Sutter., Walker et Hoffman. 1999 : Pharmacologie intégrée. Edition De Boeck. P : 419.

Pechere J-C. 1991 : Les infections. Edition Eddisem. P: 798.

Perrier R., Auffret Vander Kemp T et Zonszain. 1997 : Expériences faciles et moins faciles en sciences biologiques. Edition Doin. P : 169,174.

Perrone C. 1999 : Maladies infectieuses. Volume 1 édition Doin. P : 65.

Peyrefitte G. 1995 : Biologie de la peau. 2^{ème} édition SIMEP. P : 20-21, 47-51.

Prescott L-M., Harley J-P et Klein D-A. 2003 : Microbiologie. 2^{ème} édition De Boeck et Larcier. Bruxelles. P : 711-779.

Rahal K., Benslimani A., Tali-Maamar H., Missoum MFK et AMMARI. 2011 : Standardisation de l'antibiogramme à l'échelle nationale selon les recommandations de l'OMS. 6^{ème} édition. P : 25-26, 97-205.

Raoult D. 1998 : Dictionnaire de maladies infectieuses. Edition Elsevier. Paris. P : 20.

Regnaul J-P.2002 : Elément de microbiologie et d'immunologie. Edition Décarie. P : 260-267 ; 460-469.

Sablioniere B. 2002 : Biologie – Microbiologie. Edition Ellipses. Paris. P : 160.

Schaechter., Medoff et Eisenstein. 1999 : Microbiologie et pathologie infectieuse. Edition De Boeck & Larcier. Bruxelles. P : 16-18, 281.

Senneville E. 2008 : Infection et pied diabétique. La revue de médecine interne. Tome 29. S243-S248.

Stahl J-P. 2007 : Recommandations pour la pratique clinique – prise en charge du pied diabétique infecté. Médecine et maladies infectieuses n°37. P : 1-13.

Stevens A., James S et Young L-B. 2004 : Anatomie pathologique. Edition De Boeck & Larcier. Bruxelles. P : 242.

Stora D. 2010 : Pharmacologie B.P. 4^{ème} édition Porphyre. P: 44-48.

Toumi A., Bernard L et Chakroun M. 2011: Antibiothérapie des infections du pied diabétique. Revue Tunisienne d'infectiologie. Vol.5, N°2 P : 61-67.

Vandepitte ., Verhaegen J., Engbaek K., Rohner P., Piot P et Heuck C-C. 2003: Basic laboratory procedures in clinical bacteriology. Second edition World Health Organization. Geneva. P: 86-93.

Vaubourdolle M. 2006: Infectiologie. 3^{ème} édition Le moniteur. P : 448.

Vautrin D. 2005 : Une peau zéro défaut. Edition Alpen. Paris. P: 10-13.

Wallach D. 2003: Guide pratique de dermatologie. Edition Flammarion. Paris. P: 74-75.

Wallach D. 2007 : Guide pratique de dermatologie. 3^{ème} édition Masson. P : 81-83.

Annexes

Annexe 01:

Tableau VIII : Classification des antibiotiques : (Rahel et al., 2011).

LA FAMILLE		ANTIBIOTIQUE	SIGNE	
Beta Lactamines	Pénicilline	Pénicilline G	P	
		Pénicilline A	Ampicilline	AMP
			Amoxicilline	AMX
			Amoxicilline + ac.clavulanique	AMC
			Ticarcilline	TIC
			Ticarcilline + ac.clavulanique	TCC
			Pipéracilline	PIP
	Pénicilline M	Oxacilline	OXA	
	Carbapénèm	Imipénèm	IPM	
	Céphalosporine 1 ^{ère} génération	Céfalotine	CF	
		Céfalexine	CN	
		Céfazoline	CZ	
	Céphalosporine 2 ^{ème} génération	Céfoxitine	FOX	
		Céfuroxime	CXM	
	Céphalosporine 3 ^{ème} génération	Céfotaxime	CTX	
Céftazidime		CAZ		
Céfixine		CFM		
Monobactame	Aztréonam	ATM		
Aminoside Aminocyclitol	Streptomycine	S		
	Gentamicine	GM		
	Kanamycine	K		
	Amikacine	AN		
	Tobramycine	TOB		
Phénicoles	Chloramphénicol	C		
Tétracyclines	Tétracycline	TE		
	Doxycycline	DO		
Macrolides et apparentés	Macrolides	Erythromycine	E	
		Spiramycine	SP	
	Lincosamides	Clindamycine	CM	
		Lincomycine	L	
	Streptogramines	Pristimanycline	PT	
Virginamycine		VG		
Nitrofuranes	Furane	F		
Glycopeptide	Vancomycine	VA		
	Teicoplanine	TEC		
Polypeptides	Bacitracine	B		
	Colistine	CS		
Sulfamides et associations	Cotrimoxazole	SXT		
	Sulfamide	SSS		
Quinolone	Acide nalidixique	NA		
	Ciprofloxacine	CIP		
Divers	Rifampicine	RIF		
	Acide fusidique	FA		

Annexe 02 :

Tableau IX : Matériel non biologique :

Appareilles et verrerie :	Solutions, réactifs, colorants et disques imprégnés :	Milieux de culture :	Milieux d'identification
<ul style="list-style-type: none"> • Bec Bunsen • Microscope optique • Etuve (37°C) • Etuve (30°C) • Réfrigérateur (+4°C) • Congélateur (-20°C) • Etuve de séchage (65°C) • Agitateur • Bain marie • Lames et lamelles • Pipettes Pasteur • Tubes à hémolyses • Entonnoirs • Boîtes de Pétri stériles • Ecouvillons stériles • Jarre • Portoirs à tube • Pince en plastique • Anse de platine • Pied à coulisse métallique 	<ul style="list-style-type: none"> • Eau distillée stérile • Eau physiologique stérile à 0.9% • Eau oxygénée H₂O₂ • Huile de vaseline stérile • Huile d'immersion • Alcool à 95° • Eau de javel • Réactifs de Voges-Proskauer (VP I, VP II) • Réactifs de Kovacs • Réactifs de Griess-Ilosvay (NR I, NR II) • Poudre de Zinc • Réactif de Tryptophane désaminas (TDA) • Rouge de méthyle (RM) • Bleu de méthylène • Violet de Gentiane • Lugol • Fuschine • Pastorex-Strep • Pastorex-Staph • Disques d'oxydase • Disques d'ONPG • Disques d'antibiotiques 	<ul style="list-style-type: none"> • Gélose nutritive • Gélose Hektoen • Gélose Chapman • Gélose au sang frais • Gélose au sang cuit • Sabouraud au Chloramphénicol • Sabouraud au Chloramphénicol + Actidione <hr/> <p>Milieux d'antibiogramme</p> <ul style="list-style-type: none"> • Gélose Mueller Hinton (MH) • Gélose Mueller Hinton additionnée au sang (MH au sang) • Gélose Mueller Hinton additionnée de 4% de NaCl <hr/> <p>Milieux d'enrichissement</p> <ul style="list-style-type: none"> • Bouillon cœur cerveau (BHIB) • Bouillon Glucose Tamponné (BGT) 	<ul style="list-style-type: none"> • Bouillon nitrate • Citrate de Simmons • Bouillon Clark et Lubs • Eau péptonnée exempte d'indole • Gélose Mannitol mobilité • Gélose Triple Sugar Iron • Tellurite de Potassium • Milieu de Moeler (Témoin, ADH, ODC, LDC) • Milieu Urée indole • Galerie API 20E • Galerie API 20 NE

Tableau X : Liste des antibiotiques testés durant le stage selon le germe identifié :

1- Pour les bactéries non exigeantes :

Entérobactéries		<i>Pseudomonas spp</i>		<i>Staphylococcus aureus</i>		<i>Enterococcus</i>	
Ampicilline	AMP	Ticarcilline	TIC	Pénicilline	P	Ampicilline	AMP
Amoxicilline + Acide clavulanique	AMC	Ticarcilline + Acide clavulanique	TCC	Oxacilline	OXA	Gentamicine	GM
Céfotaxime	CTX	Céftazidime	CAZ	Céfoxime	FOX	Streptomycine	S
Céfoxime	FOX	Pipéracilline	PIP	Gentamicine	GM	Erythromycine	E
Céfazoline	CZ	Gentamicine	GM	Amikacine	AK	Doxycycline	DO
Imipénèm	IPM	Imipénèm	IMP	Kanamycine	K	Vancomycine	VA
Gentamicine	GM	Amikacine	AK	Erythromycine	E		
Chloramphénicol	C	Tobramycine	TOB	Clindamycine	CM		
Ciprofloxacine	CIP	Ciprofloxacine	CIP	Ofloxacine	OFX		
Acide nalidixique	NA	Fosfomycine	FOS	Vancomycine	VA		
Cotrimoxazole	SXT			Rifampicine	RIF		
Fosfomycine	FOS			Cotrimoxazol	SXT		
				Doxycycline	DO		
				Chloramphénicol	C		
				Pristinamycine	PT		
				Acide fusidique	NA		
				Fosfomycine	FOS		

(Rahel et al., 2011)

2- Pour les bactéries exigeantes :

Streptocoques β- hémolytique		Streptocoques α ou non hémolytique	
Pénicilline	P	Pénicilline	P
Ampicilline	AMP	Ampicilline	AMP
Céfotaxime	CTX	Céfotaxime	CTX
Erythromycine	E	Erythromycine	E
Clindamycine	CM	Clindamycine	CM
Doxycycline	DO	Doxycycline	DO
Vancomycine	VA	Vancomycine	VA
Chloramphénicol	C	Chloramphénicol	C
Pristinamycine	PT	Pristinamycine	PT
		Rifampicine	RIF

(Rahel et al., 2011)

Tableau XI : Résistance naturelle chez les Entérobactéries :**(Rahel et al., 2011)**

Bactérie	AMP	AMC	TIC/PIP	C1G	FOX	GEN	TCY	COL	NIT
<i>Klebsiella spp.</i>	R		R						
<i>Citrobacte freundii</i>	R	R		R	R				
<i>Enterobacter cloacae</i>	R	R		R	R				
<i>E.aerogenes</i>	R	R		R	R				
<i>Serratia marcescens</i>	R	R		R				R	
<i>Proteus mirabilis</i>							R	R	R
<i>P.vulgaris</i>	R			R			R	R	R
<i>Morganella morgani</i>	R	R		R			R	R	R

Tableau XII : Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition pour les Entérobactéries :

Antibiotiques testés	Charge des Disques	Diamètres critiques (mm)		
		Résistant	Intermédiaire	Sensible
Ampicilline	10µg	≤ 13	14– 16	≥ 17
Amoxicilline +Ac.clavulanique	20/10µg	≤ 13	14– 17	≥ 18
Céfazoline	30µg	≤ 19	20– 22	≥ 23
Céfalotine	30µg	≤ 14	15– 17	≥ 18
Cefoxitine	30µg	≤ 14	15– 17	≥ 18
Céfotaxime	30µg	≤ 22	23– 25	≥ 26
Ceftriaxone	30µg	≤ 19	20– 22	≥ 23
Imipénème	10µg	≤ 19	20–22	≥ 23
Amikacine	30µg	≤ 14	15– 16	≥ 17
Gentamicine	10µg	≤ 12	13– 14	≥ 15
Acide nalidixique	30µg	≤ 13	14– 18	≥ 19
Ciprofloxacine	5µg	≤ 15	16– 20	≥ 21
Chloramphénicol	30µg	≤ 12	13– 17	≥ 18
Colistine	-----	-----	-----	-----
Furanes	300µg	≤ 14	15– 16	≥ 17
Fosfomycine	200µg	≤ 12	13– 15	≥ 16
Triméthoprim+ Sulfaméthoxazole	1.25/23.75µg	≤ 10	11– 15	≥ 16

(Rahel et al., 2011)

Tableau XIII : Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition pour *Pseudomonas aeruginosa*

Antibiotiques testés	Charge des disques	Diamètres critiques (mm)		
		R	I	S
Ticarcilline	75µg	14	---	15
Ticarcilline + ac.clavulanique	75/10µg	14	---	15
Pipéracilline	100µg	17	---	18
Ceftazidime	30µg	14	15– 17	18
Aztréonam	30µg	15	16– 21	22
Imipénème	10µg	13	14– 15	16
Amikacine	30µg	14	15– 16	17
Gentamicine	10µg	12	13– 14	15
Nétilmicine	30µg	12	13– 14	15
Tobramycine	10µg	12	13-14	15
Ciprofloxacine	5µg	15	16-20	21
Lévofloxacine	5µg	13	14-16	17
Fosfomycine	50µg + 50µg G6P	14	-----	≥ 14
Rifampicine	30µg	14	14 -18	≥ 19
Colistine	10µg	10	-----	11

(Rahel et al., 2011)

Tableau XIV : Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition pour *Staphylococcus spp.*

Antibiotiques testés	Charge des disques	Diamètres critiques (mm)		
		R	I	S
Pénicilline	10UI	28	---	29
Oxacilline	1µg	10	11– 12	13
Cefoxitine	30µg	21	---	22
Gentamicine	10µg	12	13– 14	15
Kanamycine	30µg	13	14– 17	18
Amikacine	30µg	14	15– 16	17
Erythromycine	15µg	13	14– 22	23
Clindamycine	2µg	14	15– 20	21
Vancomycine	CMI	---	---	≥ 15
Teicoplanine	30µg	10	11-13	14
Ofloxacine	5µg	14	15-17	18
Triméthoprime+ Sulfaméthoxazole	1.25/23.75µg	≤ 10	11– 15	≥ 16
Rifampicine	5µg	16	17-19	20
Tétracycline	30µg	14	15-18	18
Chloramphénicol	30µg	≤ 12	13– 17	≥ 18
Pristinamycine	10µg	< 19	19-21	≥ 22
Acide fusidique	10µg	< 24	----	≥ 24
Fosfomycine	50µg	< 14	----	≥ 14

(Rahel et al., 2011)

Tableau XV : Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition pour les Streptocoques :

Antibiotiques testés	Charge des disques	Diamètres critiques (mm)		
		R	I	S
Pénicilline	10g	---	---	≥ 24
Ampicilline	10µg	---	---	≥ 24
Gentamicine	10µg	12	13– 14	15
Kanamycine	30µg	13	14– 17	18
Amikacine	30µg	14	15– 16	17
Erythromycine	15µg	13	14– 22	23
Clindamycine	2µg	14	15– 20	21
Vancomycine	30µg	---	---	≥ 15
Triméthoprim+ Sulfaméthoxazole	1.25/23.75µg	≤ 10	11– 15	≥ 16
Tétracycline	30µg	14	15-18	18
Chloramphénicol	30µg	≤ 12	13– 17	≥ 18
Pristinamycine	10µg	< 19	19-21	≥ 22

(Rahel et al., 2011)

Annexe 03 :
Matériel non biologique :



Sécheuse



Microscope optique



Etuve

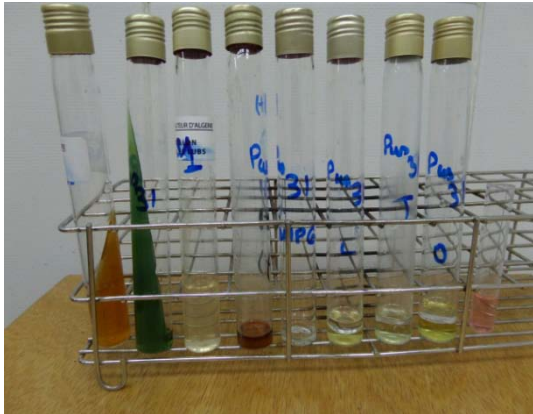


Réactifs

Les milieux de culture et les galeries biochimiques :



Les milieux de culture

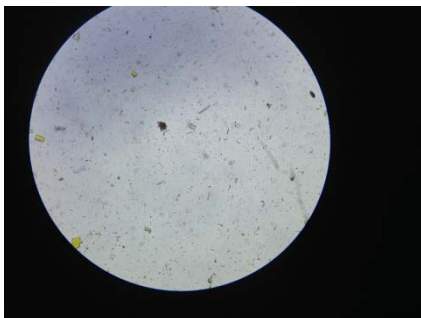


Galerie classique

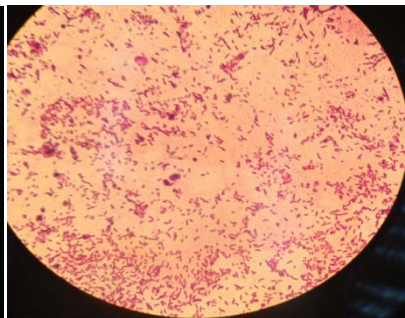


Galerie Api (API 20 E, API 20 NE)

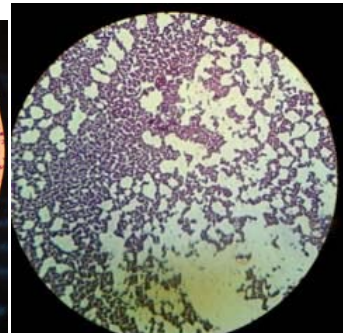
Observations au microscope optique :



Examen direct d'un pus



Bacilles à Gram -



Cocci à Gram +

Les tests réalisés :



Test de la catalase



Nitrate réductase



TSI



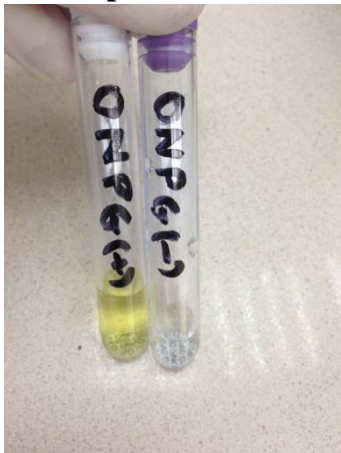
Citrate perméase



VP



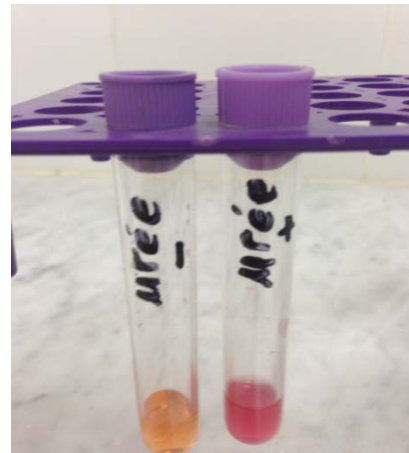
RM



ONPG



Acide aminé



Uréase



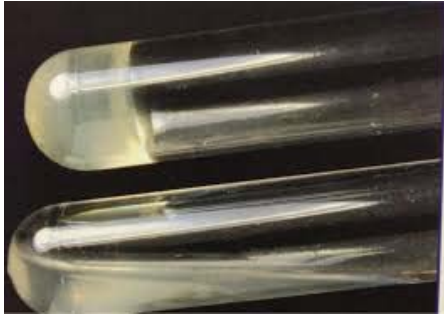
Tryptophanase



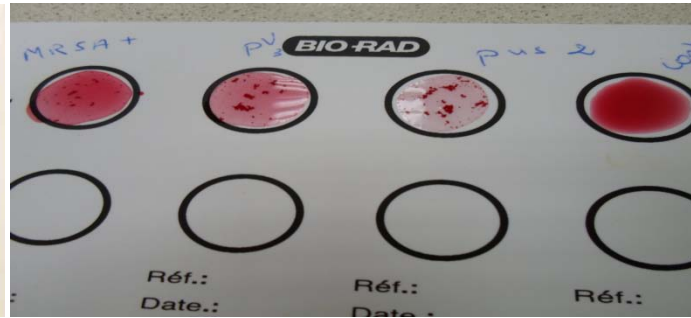
TDA



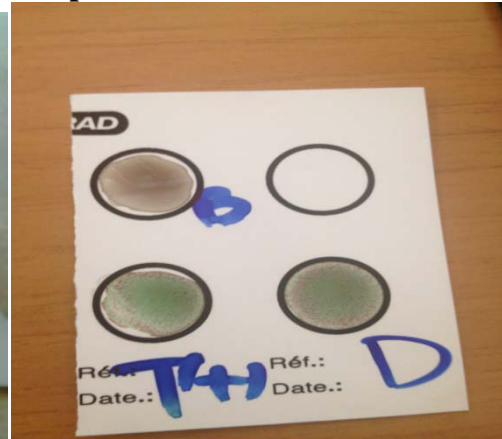
Esculine



Staphylocoagulase

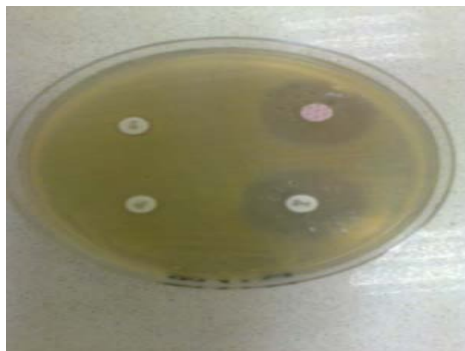


Pastorex- Staph Plus



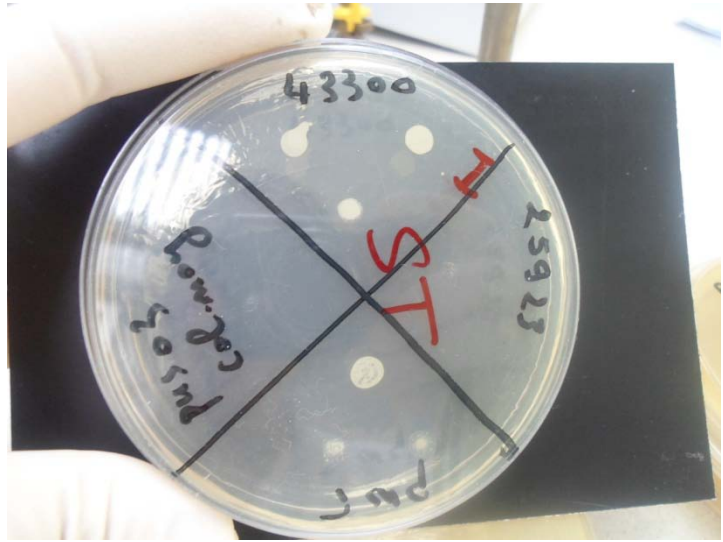
Sérotypage des Streptocoques

Antibiogramme





Test de trèfle



Screening Test